

## DETEKSI *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* PADA JAJANAN SIRUP

**Submitted :** 10 April 2017

**Edited :** 15 Mei 2017

**Accepted :** 23 Mei 2017

Ririn Puspawati, Putranti Adirestuti, Afif Abdulbasith

Fakultas Farmasi Universitas Jenderal Achmad Yani Cimahi

Email : ririn.puspawati@lecture.unjani.ac.id

### ABSTRACT

*Microbial on food are caused by various factors such as nutrients, water, and temperature. If total amount of microbes increase it would damage food and if it ingested could affect gastrointestinal track. Snack, especially unregistered snack such as syrup in school is one of important problem to concerned. The purpose of this study is to detect the present of Staphylococcus aureus and Salmonella in syrup in four elementary schools in Cimahi. Detection of Staphylococcus aureus is done using BPA medium, while detection of Salmonella is using Indol test, methyl red test, Voges Proskauer test, Citrate test and Gram staining. The result shows that the syrup from the elementary school contains Staphylococcus aureus but not all of samples of syrup give positive result of Salmonella. Based on the requirements which in set in SNI that microbes in syrup should not be contain to Staphylococcus aureus is negative/ml and Salmonella is negative/25 ml, then syrup that sold in all four elementary school did not qualified.*

**Keywords :** *Staphylococcus aureus. Salmonella, snack food, elementary school, Syrup*

### PENDAHULUAN

Rendahnya tingkat keamanan Pangan Jajan Anak Sekolah (PJAS) masih menjadi permasalahan penting. Data pengawasan PJAS yang dilakukan Badan POM RI cq Direktorat Inspeksi dan Sertifikasi Pangan bersama 26 Balai Besar/Balai POM di seluruh Indonesia menunjukkan bahwa 45 % PJAS tidak memenuhi syarat karena mengandung bahan kimia melebihi batas aman serta cemaran mikrobiologi. Sampel PJAS yang diperiksa memiliki nilai Angka Lempeng Total melebihi batas dan mengandung *S.aureus* dan *E.coli* melebihi batas yang ditentukan<sup>(1)</sup>.

Pangan jajanan sebagai makanan dan minuman yang di persiapkan dan/atau di jual oleh pedagang kaki lima di jalanan dan

tempat keramaian umum lain yang langsung di makan atau di konsumsi kemudian tanpa pengolahan atau persiapan lebih lanjut<sup>(2)</sup>.

Penelitian yang berhubungan dengan keamanan pangan khususnya Pangan Jajan Anak Sekolah (PJAS) yang pernah dilakukan antara lain di daerah Bogor, Jakarta dan Makassar. Pangan jajanan Anak Sekolah mendapat perhatian penting karena sebagian besar asupan energi anak sekolah di peroleh pada waktu anak- anak tersebut berada di sekolah. Penelitian yang pernah dilakukan di Sekolah Dasar di kota Makassar tentang analisis total mikroba pada jajanan pisang goreng dengan penambahan palm sugar terdapat  $2,5 \times 10^4$  CFU/gram, pada pisang goreng dengan penambahan meses terdapat  $1 \times 10^3$  CFU/gram, pada minuman es

jeruk terdapat  $1 \times 10^3$  CFU/gram dan pada es buah sebanyak  $2,72 \times 10^5$  CFU/gram. Pada sampel tidak terdapat mikroba *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Mikroba pada es jeruk terdapat 23 CFU/100 ml dan es buah terdapat 240 CFU/100 ml namun tidak terdapat mikroba Coliform faecal (*Escherichia coli*). Disimpulkan bahwa semua sampel makanan jajanan aman untuk dikonsumsi sedangkan sampel minuman (es jeruk dan es buah) tidak aman untuk dikonsumsi<sup>(3)</sup>.

*Staphylococcus aureus* termasuk dalam keluarga Micrococcaceae, sel bersifat Gram positif, bentuk bulat (kokus), dalam koloni berbentuk khas seperti rangkaian anggur. Bakteri ini terdapat pada pori-pori, permukaan kulit, kelenjar keringat dan saluran usus. *S.aureus* dapat memproduksi enam macam enterotoksin yang terdiri dari enterotoksin A, B, C1, C2, D dan E. Pembentukan enterotoksin oleh *S.aureus* di dalam makanan dipengaruhi oleh sifat dan komposisi substrat, serta suhu dan pH. *S.aureus* dapat menghasilkan enterotoksin pada yang sudah matang atau makanan dipanaskan kembali. Meskipun telah dimasak, makanan-makanan tersebut masih dapat mengalami kontaminasi. Misalnya oleh tangan selama penyimpanan sebelum dikonsumsi.

Bakteri dari genus *Salmonella* merupakan bakteri penyebab infeksi. Istilah jika *Salmonella* tertelan dan masuk ke dalam tubuh sampai akan menimbulkan gejala seperti gastroenteritis dan demam tifoid disebut salmonellosis. Pangan dicemari oleh *Salmonella* karena keadaan lingkungan yang panas ataupun lembab yang menstimulir pertumbuhannya. Keberadaan *Salmonella* dalam jumlah yang tinggi pada makanan tidak selalu dapat dideteksi melalui perubahan warna makanan, bau makanan maupun rasa makanan. Sumber kontaminasi dapat berasal dari manusia dan hewan

*Salmonella* yang terserang Salmonellosis secara langsung maupun tidak langsung<sup>(4)</sup>.

Banyak pedagang sirup yang terdapat di Sekolah Dasar pada kota Cimahi dan sirup merupakan pangan jajanan yang sering dikonsumsi oleh murid sekolah, tapi belum diperoleh informasi tentang keamanan pangan jajanan tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi adanya *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella* pada pangan jajanan sirup yang terdapat pada SD di Cimahi.

## METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif untuk memeriksa cemaran mikroba pada jajanan sirup. Sampel sirup sebagai objek diambil dari pangan jajanan anak sekolah pada empat Sekolah Dasar yang ada di Cimahi. Sampel diambil dengan menggunakan plastik tertutup rapat dan dibawa ke laboratorium untuk dilakukan penelitian tidak lebih dari 24 jam setelah pengambilan. Pengambilan sampel dilakukan sebanyak tiga kali. Hasil penelitian akan di bandingkan dengan spesifikasi mutu yang tercantum.

## Bahan penelitian

Sampel sirup, Pepton Dilution Fluid, media Baird Parker Agar (BPA), media Nutrien Agar (NA), media Simmon Sitrat, kristal violet, lugol, etanol 95 %, aquadest, safranin, Pepton Broth, Reagen Kovacs, Methyl red, larutan Voges Proskauer, alfa naftol, KOH 40%.

## Alat penelitian

Autoclave, inkubator, timbangan analitik, Cawan petri, tabung reaksi, pipet volume, jarum ose, kaca objek, Laminar Air Flow, hot plate, lampu spiritus, Mikroskop.

### Prosedur percobaan Sterilisasi alat

Alat gelas (cawan petri, pipet volume, dan tabung reaksi) dibungkus menggunakan kertas coklat, kemudian disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.

### Uji *Staphylococcus aureus*

Sampel sirup di pipet sebanyak 25 mL dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 225 mL larutan pengencer *Peptone Dilution Fluid* (PDF) dan dikocok sampai homogen sehingga didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Pengujian selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif. Dari pengenceran  $10^{-1}$  dipindahkan 1 mL ke dalam larutan 9mL *Peptone Dilution Fluid* (PDF) untuk mendapatkan pengenceran  $10^{-2}$ . Dengan cara yang sama dibuat pengenceran  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ , dan seterusnya.

Suspensi di pipet 0,1 mL dari setiap pengenceran dan di inokulasikan pada cawan petri yang berisi media *Baird-Parker Agar* (BPA). Suspensi sampel di atas permukaan media agar diratakan dengan menggunakan batang gelas, dan biarkan sampai suspensi terserap.

Di inkubasikan pada temperatur 35°C selama 30 jam sampai dengan 48 jam pada posisi terbalik. Dipilih cawan petri yang mengandung jumlah koloni 20 sampai dengan 200. Apabila cawan petri pada pengenceran terendah berisi < 20 koloni dan atau > 200 koloni, maka lanjutkan penghitungan koloni pada cawan petri dengan pengenceran yang lebih tinggi.

Dicatat jumlah masing-masing koloni *S.aureus* yang mempunyai ciri khas cembung, bulat, licin dengan diameter kurang lebih 3 mm, berwarna hitam. Tepi koloni putih dan dikelilingi daerah yang terang. Konsistensi koloni seperti mentega atau lemak jika disentuh oleh ose. Satu atau lebih koloni dari masing-masing bentuk

yang tumbuh diambil dan dilakukan uji identifikasi pewarnaan gram<sup>(5)</sup>.

### Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus*

Biakan murni bakteri diambil 1 ose secara aseptis dan diletakkan pada masing-masing kaca preparat kemudian sampel dipanaskan diatas api bunsen hingga terfiksasi. Diteteskan satu tetes kristal violet di atas kaca preparat tersebut kemudian didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades.

Diteteskan larutan Lugol di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades. Diteteskan etanol 95% di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades mengalir hingga warnanya hilang.

Diteteskan safranin di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades mengalir. Setelah pembilasan terakhir, kaca preparat dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop. Sel bakteri *Staphylococcus* akan terlihat berbentuk kokus berwarna ungu (gram positif), bergerombol seperti anggur atau terlihat hanya satu bakteri<sup>(5)</sup>.

### Uji biokimia *Salmonella* dengan uji *IMViC*. Uji produksi *indol*

Biakan dari media Nutrient Agar (NA) di inokulasikan pada *Pepton Broth* dan di inkubasikan pada temperatur 35°C selama 24 jam ± 2 jam. Ditambahkan 0,2 mL sampai dengan 0,3 mL reagen *Kovacs*. Terbentuknya cincin merah menyatakan hasil positif.

### Uji *Voges-Proskauer* (VP)

Biakan dari media NA di inokulasikan pada tabung yang berisi 10 mL media *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP) dan di inkubasikan pada temperatur 35°C selama

48 jam. Dipindahkan 5 mL MR-VP ke tabung reaksi dan tambahkan 0,6 mL larutan  $\alpha$ -naphthol dan 0,2 mL KOH 40%, kemudian digoyang-goyang (dikocok). Munculnya warna merah muda eosin menandakan hasil reaksi positif.

#### Uji *Methyl Red* (MR)

Biakan dari media NA di inokulasikan ke tabung yang berisi 10 mL media MR-VP dan inkubasikan pada temperatur 35°C selama 48 jam  $\pm$  2 jam. Ditambahkan 2 tetes sampai dengan 5 tetes indikator *Methyl Red* pada tabung. Warna merah yang terbentuk menandakan hasil reaksi positif.

#### Uji *citrate*

Koloni dari media Agar miring Nutrient Agar di inokulasikan ke dalam media *Cimmon's Citrate Agar*, dan inkubasikan pada temperatur 35°C selama 96 jam. Perubahan warna media dari hijau menjadi biru menandakan hasil positif<sup>(5)</sup>.

#### Pewarnaan Gram *Salmonella*

Biakan murni bakteri diambil 1 ose secara aseptis dan diletakkan pada masing-masing kaca preparat kemudian sampel dipanaskan diatas api bunsen hingga terfiksasi. Ditetaskan satu tetes kristal violet di atas kaca preparat tersebut kemudian didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades. Ditetaskan larutan Lugol di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades.

Ditetaskan etanol 95% di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades mengalir hingga warnanya hilang. Ditetaskan safranin di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades mengalir. Setelah pembilasan terakhir, kaca preparat

dikeringkan dan diamati di bawah mikroskop<sup>(5)</sup>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Uji *Staphylococcus aureus*

Hasil pengujian dari tiga kali pengambilan sampel diperoleh keberadaan *Staphylococcus aureus* pada jajan sirup di keempat SD. Hasil dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji kepastian *Staphylococcus aureus*

Pengambilan	SD	Warna koloni
I	I	
	II	
	III	
	IV	
II	I	Hitam dikelilingi zona bening
	II	
	III	
	IV	
III	I	
	II	
	III	
	IV	

Deteksi adanya *Staphylococcus aureus* dilihat dari pertumbuhan koloni pada media Baird Parker Agar (BPA) dengan ciri koloni berwarna hitam dikelilingi zona bening. Pengujian adanya *Staphylococcus aureus* dalam pangan menjadi penting disebabkan enterotoksin dapat diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* pada makanan yang telah dimasak atau dipanaskan. Toksin ini dapat menyebabkan gastroenteritis dan inflamasi pada saluran usus. Keracunan stafilokokus hampir selalu berasal dari makanan yang telah dimasak karena jumlah mikroba lain yang dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menjadi berkurang dengan proses pemanasan tersebut<sup>(4)</sup>.

Identifikasi *Staphylococcus aureus* menggunakan media Baird Parker Agar

(BPA) yang mengandung litium klorida dan telurit untuk menghambat pertumbuhan bakteri lain, sedangkan kandungan piruvat dan glisin dimaksudkan untuk mendukung pertumbuhan *Staphylococci*. Adanya reduksi tellurite menjadi tellurium menyebabkan koloni *Staphylococcus aureus* berwarna hitam. Egg-yolk yang ditambahkan akan mengalami proteolisis dan lipolisis sehingga terbentuk daerah bening di sekitar koloni berbentuk cincin<sup>(6)</sup>.

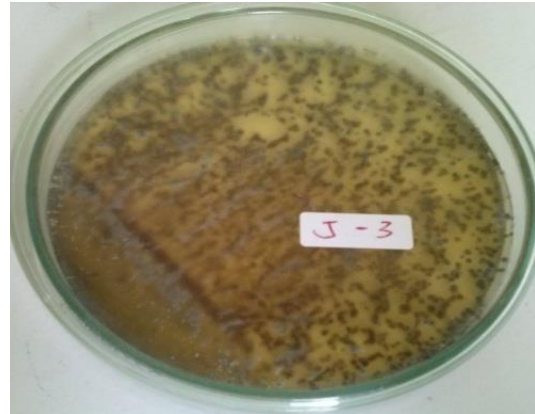
Koloni *Staphylococcus aureus* dari sampel sirup pada media BPA dapat dilihat pada gambar 1-4.



**Gambar 1.** Koloni *Staphylococcus aureus* pada sampel sirup di SD I



**Gambar 2.** Koloni *Staphylococcus aureus* pada sampel sirup di SD II



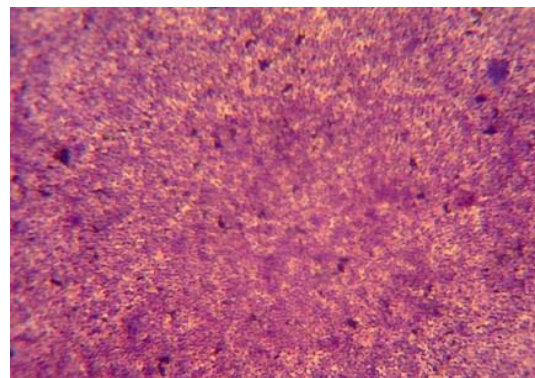
**Gambar 3.** Koloni *Staphylococcus aureus* pada sampel sirup di SD III



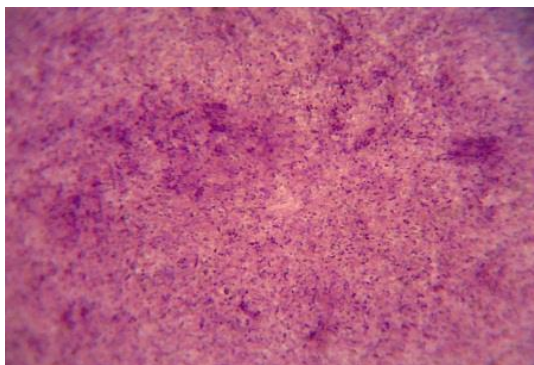
**Gambar 4.** Koloni *Staphylococcus aureus* pada sampel sirup di SD IV

#### **Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus***

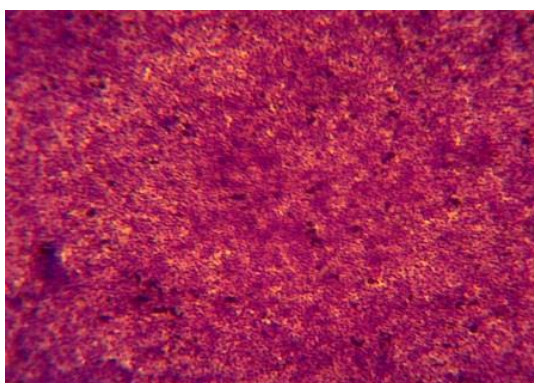
Hasil identifikasi pewarnaan Gram pada sampel menunjukkan Gram + (*Staphylococcus aureus*).



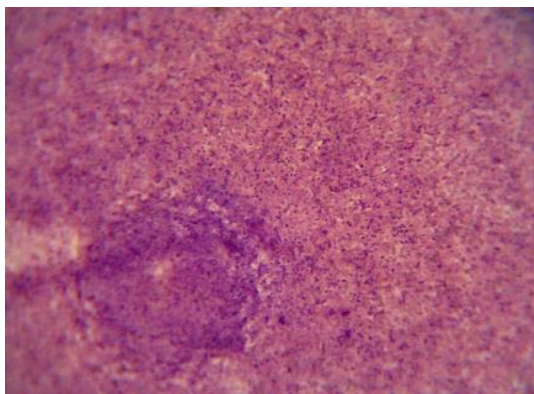
**Gambar 5.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD I



**Gambar 6.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD II



**Gambar 7.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD III



**Gambar 8.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD IV

*Staphylococcus aureus* merupakan Gram + yang dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet, sehingga akan terlihat koloni yang berwarna ungu<sup>(7)</sup>.

**Uji biokimia *Salmonella* dengan uji IMViC. Uji produksi indol**

Deteksi *Salmonella* pada sampel sirup dilakukan dengan pewarnaan dan uji biokimia IMViC. *Salmonella* merupakan bakteri Gram -, memberikan hasil negatif pada uji indol. *Salmonella* tidak mempunyai kemampuan merubah triptofan menjadi indol karena tidak memiliki triptopanase, sehingga pada uji indol memberikan hasil yang negatif<sup>(8)</sup>. Hasil uji indol pada keempat SD dari tiga kali pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji Indol dalam sampel sirup pada SD I, II, III dan IV

Pengambilan	I	II	III
SD I	-	-	+
SD II	+	+	-
SD III	-	+	-
SD IV	+	+	+

**Uji *Voges-Proskauer (VP)***

*Salmonella* juga tidak dapat memfermentasi 2,3-butanadiol maka pada uji Voges Proskauer memberikan hasil negatif<sup>(8)</sup>. Hasil uji VP pada keempat SD dari tiga kali pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji VP dalam sampel sirup pada SD I, II, III dan IV

Pengambilan	I	II	III
SD I	-	-	-
SD II	-	-	-
SD III	-	-	-
SD IV	-	-	-

**Uji *Methyl Red (MR)***

*Salmonella* mampu mefermentasi asam sehingga uji Metil red memberikan hasil positif<sup>(8)</sup>. Hasil uji MR pada keempat SD dari tiga kali pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Uji MR dalam sampel sirup pada SD I, II, III dan IV

Pengambilan	I	II	III
SD I	+	+	+
SD II	+	+	+
SD III	+	+	+
SD IV	+	+	+

**Uji citrate**

Pemanfaatan sitrat sebagai sumber karbon tunggal dapat dilakukan oleh *Salmonella* pada media Simmon’s Citrate memberikan hasil positif<sup>(8)</sup>

Hasil uji MR pada keempat SD dari tiga kali pengambilan sampel dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil Uji Citrate dalam sampel sirup pada SD I, II, III dan IV

Pengambilan	I	II	III
SD I	+	+	+
SD II	+	+	+
SD III	+	-	-
SD IV	+	-	+

Pengambilan sampel pertama dan kedua pada SD I terdeteksi adanya keberadaan *Salmonella*. Sampel yang berasal dari SD II keberadaan *Salmonella* terdapat pada pengambilan sampel ketiga. Pada SD III deteksi *Salmonella* terdapat pada pengambilan sampel pertama. Sedangkan pada SD keempat tidak ditemukan adanya *Salmonella* pada sampel sirup.

Hal ini dapat terjadi karena kondisi kebersihan pembuatan sirup yang tidak seragam, atau air yang digunakan telah tercemar dengan *Salmonella*.

**Pewarnaan Gram *Salmonella***

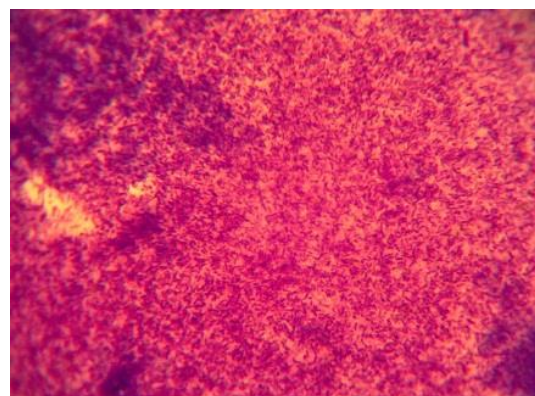
Hasil identifikasi pewarnaan Gram pada sampel menunjukkan Gram - (*Salmonella*).



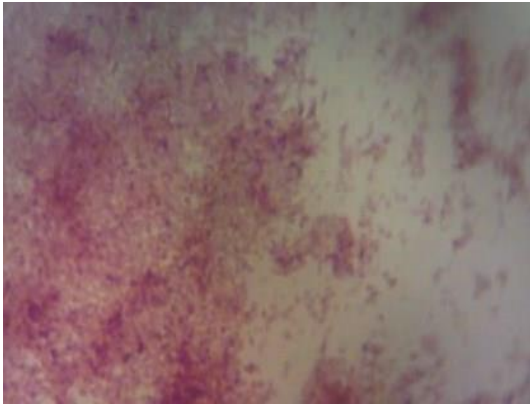
**Gambar 9.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD I



**Gambar 10.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD II



**Gambar 11.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD III



**Gambar 12.** Hasil pewarnaan Gram pada sampel sirup di SD IV.

*Salmonella* merupakan Gram - yang dapat tidak dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet, sehingga akan terlihat koloni yang berwarna merah dengan adanya safranin sebagai pewarna tandingan<sup>(7)</sup>.

#### SIMPULAN

Berdasarkan persyaratan cemaran mikroba terhadap pangan jajan sirup yang ditetapkan dalam SNI tidak boleh terdapat untuk *Staphylococcus aureus* adalah negatif/ml dan Samonella adalah negatif/25 ml, maka pangan jajan sirup yang dijual di keempat SD tersebut belum memenuhi syarat.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada :

1. Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Jenderal Achmad Yani-Cimahi atas bantuan dana yang diberikan selama penelitian.
2. Saudara Iman Taufik S.Farm., Apt dan Nugraha Rahmat Gumilar S.Farm., Apt atas bantuannya selama penelitian.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. BPOM, Sistem Keamanan Pangan Terpadu, Pangan Jajanan Anak Sekolah, 2009;

<http://www2.pom.go.id/surv/events/pjas2009fw.pdf>, 25 Maret 2015.

2. Yasmin, G dan Madanijah, S., Perilaku Penjaja Pangan Jajanan Anak Sekolah Terkait Gizi dan Keamanan Pangan Di Jakarta dan Sukabumi, 2010; Journal of Nutrition and Food, , 5(3): 148-157.
3. Pasalu, D., Sirajuddin S., dan Najamuddin U., , Analisis Total Mikroba dan Jenis Mikroba Patogen Pada Jajanan Anak Di SDN Kompleks Mangkura Kota Makassar, 2013.[repository.unhas.ac.id/handle/123456789/6709](http://repository.unhas.ac.id/handle/123456789/6709)
4. Supardi, I & Sukamto, Mikrobiologi Dalam Pengolahan Dan Keamanan Pangan, 1999; Penerbit Alumni, Jakarta.
5. Standar Nasional Indonesia, Cara Uji Cemaran Mikroba, SNI 2897 : 2008; Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.[http://sisni.bsn.go.id/index.php/sni\\_main/sni/detail\\_sni/11914](http://sisni.bsn.go.id/index.php/sni_main/sni/detail_sni/11914), 19 Mei 2017.
6. Kusuma, S.A F., Uji Biokimia Bakteri, 2009; Universitas Padjajaran, Jatinangor, Sumedang
7. Dash C & Payyapilli, R.J., KOH string and Vancomycin susceptibility test as an alternative method to Gram Staining, 2016, Journal of International Medicine and Densistry, Vol 3 (2), pp 88-90. Available at <http://dx.doi.org/10.18320/JIMD/201603.0288>
8. Abdallah M.S., Mustapha T., Gambo, A. Ishaq, S., Biochemical Identification and Cultural Characterization of Some Gram-Negative Bacteria Obtained From Fecal/Diarrhoeal Samples. CIBTech Journal of Microbiology, 2016 Vol 5 (1) January-March, pp 31-34. Available at <http://www.cibtech.org/cjm.htm>