

## KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah, Tuhan semesta alam yang telah memberikan petunjuk dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **“PENGARUH PENYIMPANAN SUHU 4°C DAN WAKTU PENYIMPANAN PADA SUSU PASTEURISASI KOMERSIAL DALAM KEMASAN YANG SUDAH DIBUKA TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus aureus*”**.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Dr. dr. Endang Sri Wahyuni, MS, selaku Ketua Jurusan Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
3. Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp.MK selaku Penguji I yang telah banyak memberikan saran.
4. Dr. dr. Nurdiana, M.Kes sebagai dosen pembimbing I yang telah memberi semangat, membimbing, dan memberi tambahan pengetahuan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
5. Ibu Titis Sari Kusuma, S.Gz sebagai dosen pembimbing II yang membimbing penulis dan memberi tambahan pengetahuan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
6. Para analis laboratorium mikrobiologi FKUB yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini,
7. Kedua orang tua dan kakak yang selalu memberi semangat.
8. Sahabat-sahabat penulis dan teman-teman gizi 2008 yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

9. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan Tugas Akhir ini masih banyak kekurangan, oleh karena itu saran maupun kritik yang membangun sangat diharapkan. Penulis juga berharap semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat yang baik bagi semuanya.

Malang, Juli 2012

Penulis



## ABSTRAK

Rahmi, Auliya. 2012. **Pengaruh Penyimpanan Suhu 4°C dan Waktu Penyimpanan pada Susu Pasteurisasi Komersial dalam Kemasan yang Sudah Dibuka Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus***. Tugas Akhir, Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Dr. dr. Nurdiana, MKes. (2) Titis Sari Kusuma, S.Gz

Jumlah produksi susu sapi yang melimpah mulai diiringi dengan kesadaran akan pentingnya konsumsi susu sapi yang bergizi. Pengolahan dengan cara pasteurisasi dan penyimpanan pada suhu 4°C dilakukan agar kualitas susu sapi tetap terjaga dalam kurun waktu tertentu dan cukup lama. Meskipun disimpan pada suhu 4°C bukan berarti kualitas susu pasteurisasi tetap terjaga. Hal ini dilihat dari adanya pertumbuhan bakteri patogen khususnya *Staphylococcus aureus* yang melebihi batas aman, apalagi penyimpanan ini dilakukan setelah kemasan susu pasteurisasi dibuka oleh konsumen. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penyimpanan pada suhu 4°C dan waktu penyimpanan pada susu pasteurisasi komersial dalam kemasan yang sudah dibuka terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan *duplo* dari 3 sampel susu pasteurisasi. Variabel bebas pada penelitian ini adalah waktu penyimpanan sedangkan variabel terikatnya adalah jumlah koloni *Staphylococcus aureus*. Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji deskriptif. Pada hari pertama penyimpanan sudah menunjukkan adanya peningkatan jumlah koloni yaitu merek X=1,2x10<sup>2</sup> cfu/ml, merek Y=1x10<sup>1</sup> cfu/ml, dan merek Z=1,7x10<sup>2</sup> cfu/ml. Apabila penyimpanan diteruskan sampai 4 hari maka pertumbuhan *Staphylococcus aureus* akan semakin meningkat yaitu jumlah koloni berturut-turut merek X, Y, dan Z adalah 8,45x10<sup>2</sup> cfu/ml, 3,285x10<sup>3</sup> cfu/ml, 6,115x10<sup>3</sup> cfu/ml. Kesimpulan dari penelitian ini adalah semakin lama waktu penyimpanan susu pasteurisasi kemasan yang sudah dibuka pada suhu 4°C maka pertumbuhan *Staphylococcus aureus* akan semakin meningkat. Berdasarkan penelitian ini disarankan agar susu pasteurisasi yang disimpan pada suhu 4°C dalam kemasan tertutup apabila sudah dibuka harus segera dikonsumsi untuk menghindari pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

Kata kunci: Susu Pasteurisasi Komersial, Suhu 4°C, Waktu Penyimpanan, *Staphylococcus aureus*.

## ABSTRACT

Rahmi, Auliya. 2012. **Effect of 4°C Storage Temperature and Storage Time on Milk Pasteurization Commercial Opened the packaging on growth of *Staphylococcus aureus***. Final Assignment, Program of Nutritional Sciences Faculty of Medicine, Brawijaya University. Advisors: (1) Dr. dr. Nurdiana, MKes. (2) Titis Kusuma Sari, S.Gz.

Total milk production of cows accompanied by abundant starting with awareness of the importance of the consumption of cow's milk is nutritious. Processing by pasteurization and storage at 4°C do to the quality of dairy cows maintained within a certain time and for a long time. Although stored at 4°C does not mean the quality of pasteurized milk is maintained. It is seen from the growth of pathogenic bacteria especially *Staphylococcus aureus* exceeds safe limits, especially storage is performed after packaging pasteurized milk opened by the consumer. The purpose of this study was to determine the effect of storage at 4°C and storage time on commercial pasteurized milk in containers that have been opened to the growth of *Staphylococcus aureus*. This research used Completely Randomized Design (CRD) with five treatments and three sample duplo (duplicate) of pasteurized milk. The independent variable in this study is the storage time while the dependent variable is the number of colonies of *Staphylococcus aureus*. Analysis of the data in this study using a descriptive test. On the first day of storage have shown an increase in the number of colonies that brand X=1.2 X10<sup>2</sup> cfu/ml, brand Y=1x10<sup>1</sup> cfu/ml, and brand Z=1.7 X10<sup>2</sup> cfu/ml. If storage continues until 4 days then the growth of *Staphylococcus aureus* will increase the number of colonies in a row the brand X, Y, and Z is 8.45 X10<sup>2</sup> cfu/ml, 3.285 x10<sup>3</sup> cfu/ml, 6.115 x10<sup>3</sup> cfu/ml. The conclusion of this study is the longer the storage time of pasteurized milk packaging that have been opened at 4°C the growth of *Staphylococcus aureus* will increase. Based on this study suggested that paseturisasi milk stored at 4°C in sealed packages when they are opened should be consumed in order to avoid the growth of *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Milk Pasteurization Commercial, Temperature 4°C, Storage Time, *Staphylococcus aureus*.

**DAFTAR ISI**

	Halaman
Halaman Judul .....	i
Halaman Persetujuan .....	ii
Kata Pengantar .....	iii
Abstrak .....	v
Abstract .....	vi
Daftar Isi .....	vii
Daftar Gambar .....	ix
Daftar Tabel .....	x
Daftar Singkatan .....	xi
Daftar Lampiran .....	xii

**BAB 1. PENDAHULUAN**

1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian	
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	3
1.4 Manfaat Penelitian	
1.4.1 Bagi Ilmu Pengetahuan .....	4
1.4.2 Bagi Masyarakat .....	4

**BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Komposisi dan Nilai Gizi Susu	
2.1.1 Laktosa .....	5
2.1.2 Lemak .....	6
2.1.3 Protein .....	6
2.1.4 Mineral .....	6
2.1.5 Enzim .....	7
2.1.6 Vitamin .....	7
2.2 Kualitas Susu .....	7
2.3 Susu Pasteurisasi	
2.3.1 Proses Pasteurisasi .....	8
2.3.2 Kualitas Susu Pasteurisasi .....	11
2.3.3 Penurunan Kualitas Selama Penyimpanan .....	12
2.3.4 Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Negatif .....	15
2.4 Media Selektif .....	22

**BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS**

3.1 Kerangka Konsep .....	23
3.2 Hipotesis Penelitian .....	24

**BAB 4. METODE PENELITIAN**

4.1 Desain Penelitian .....	25
-----------------------------	----

4.2	Populasi dan Sampel	
4.2.1	Populasi .....	25
4.2.2	Sampel .....	25
4.2.3	Kriteria Inklusi .....	25
4.2.1	Kriteria Eksklusi .....	26
4.2.2	Teknik Pengambilan Sampel .....	26
4.2.1	Perhitungan Pengulangan Sampel .....	27
4.3	Variabel Penelitian	
4.3.1	Variabel Bebas .....	28
4.3.2	Variabel Terikat .....	28
4.4	Lokasi dan Waktu Penelitian .....	28
4.5	Bahan dan Alat Penelitian	
4.5.1	Bahan .....	28
4.5.2	Alat .....	28
4.6	Definisi Operasional .....	29
4.7	Prosedur Penelitian	
4.7.1	Prosedur Penelitian pada Hari ke-0 .....	30
4.7.2	Prosedur Penelitian setelah dilakukan Penyimpanan .....	32
4.7.3	Prosedur Identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> .....	33
4.8	Analisis Data .....	34
<b>BAB 5. HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>		
5.1	Pelaksanaan Penelitian .....	35
5.2	Data Karakteristik <i>Staphylococcus aureus</i> yang Tumbuh pada MSA .....	35
5.3	Jumlah <i>Staphylococcus aureus</i> pada Susu Pasteurisasi Komersial pada Hari ke-0 hingga ke-4 .....	36
<b>BAB 6. PEMBAHASAN</b>		
6.1	Hubungan Lama Penyimpanan pada suhu 4°C dengan Jumlah Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada Susu Pasteurisasi Komersial yang kemasan sudah dibuka .....	39
6.1	Keterbatasan Penelitian .....	43
<b>BAB 7. PENUTUP</b>		
7.1	Kesimpulan .....	44
7.2	Saran .....	44
	Daftar Pustaka .....	45
	Lampiran .....	49

## DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Susu Pasteurisasi Komersial .....	10
Gambar 2.2 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme .....	13
Gambar 2.3 Pewarnaan Gram pada <i>Staphylococcus aureus</i> .....	16
Gambar 2.4 Perbedaan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Negatif .....	16
Gambar 2.5 Bakteri Koki Gram Positif.....	20
Gambar 2.6 Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada Media MSA Berbentuk Bulat dan Tampak Mengkilap .....	21
Gambar 2.7 <i>Staphylococcus aureus</i> Menfermentasi Mannitol dan Mengubahnya menjadi Warna Kuning .....	22
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual .....	23
Gambar 4.1 Prosedur Penelitian pada hari ke-0 .....	30
Gambar 4.2 Prosedur Penelitian setelah dilakukan Penyimpanan .....	32
Gambar 5.1 Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada media MSA.....	35



## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 2.1 Kandungan Rata-Rata Komponen Susu .....	5
Tabel 2.2 Standar Kualitas Susu Segar .....	8
Tabel 2.3 Standar Kualitas Susu Pasteurisasi .....	12
Tabel 4.1 Pengkodean Kelompok Perlakuan .....	27
Tabel 5.1 Karakteristik <i>Staphylococcus aureus</i> .....	35
Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Koloni Tiap Harinya pada Susu Pasteurisasi Kemas yang sudah Dibuka dan Disimpan pada Suhu 4°C	36
Tabel 5.3 Data Jumlah Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada Susu Pasteurisasi Hari ke-0 hingga ke-4 dalam cfu/ml.....	37



## DAFTAR SINGKATAN

- °C : derajat Celcius
- °F : derajat Fahrenheit
- cfu : colony forming unit
- ml : milliliter
- MSA : *Mannitol Salt Agar*
- pH : *Power of Hydrogen*
- SNI : Standar Nasional Indonesia
- TPC : *Total Plate Count*



DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Gambar L1.1 Pipet .....	49
Gambar L1.2 Pewarnaan Gram .....	49
Gambar L1.3 Uji Koagulase .....	49
Gambar L1.4 Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> pada Media MSA.....	49
Gambar L1.5 Visualisasi Metode Tuang .....	49
Gambar L1.6 Sampel X hari ke-0 .....	49
Gambar L1.7 Sampel Y hari ke-0 .....	50
Gambar L1.8 Sampel Z hari ke-0 .....	50
Gambar L1.9 Sampel X hari ke-2 .....	50
Gambar L2.0 Sampel Y hari ke-2 .....	50
Gambar L2.1 Sampel Z hari ke-2 .....	50
Gambar L2.2 Sampel X hari ke-4 .....	50
Gambar L2.3 Sampel Y hari ke-4 .....	51
Gambar L2.4 Sampel Z hari ke-4 .....	51



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Propinsi penghasil susu terbesar di Indonesia adalah Jawa Timur. Jumlah produksi susu di Jawa Timur pada akhir 2004 mencapai lebih dari 540 ton per hari (Purwadi, 2004) dan pada akhir tahun 2005 meningkat menjadi 600 ton per hari (Martiani, 2006). Ini menunjukkan bahwa jumlah produksi susu di Jawa Timur telah melimpah yang juga diiringi dengan kesadaran akan pentingnya susu. Susu merupakan salah satu pangan yang tinggi kandungan gizinya, bila ditinjau dari kandungan protein, lemak, mineral, dan beberapa vitamin. Susu merupakan pilihan pertama dalam pemenuhan kebutuhan protein, terutama pada penderita gizi buruk, sehingga kebutuhan susu perlu mendapat perhatian untuk memenuhi angka kecukupan gizi yang dianjurkan (Eka Jayasari, 2009). Namun susu juga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme patogen yang berbahaya bagi kesehatan manusia seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp, dan *Escherichia coli* (Suwito, 2010).

Pengolahan susu yang bisa digunakan untuk mengawetkan sering dihubungkan dengan proses pasteurisasi. Pasteurisasi dilakukan dengan tujuan membunuh semua mikroorganisme patogen dan sebagian mikroorganisme pembusuk, serta menginaktifkan enzim-enzim yang berada di dalam susu, sehingga dapat memperpanjang masa simpan dengan tidak mengurangi cita rasa dan nilai gizi yang terkandung di dalamnya (Martiani, 2006). Metode pasteurisasi yang umum diaplikasikan pada produk susu adalah dengan pemanasan (*thermal pasteurization*). Setelah proses pemanasan, susu masih mengandung spora-spora atau sel vegetatif yang dapat tumbuh dan berkembang (Susilorini, 2006). Ideal-

nya, pasteurisasi susu harus dilakukan dengan sempurna dan sesegera mungkin disimpan di dalam *refrigerator* 4°C untuk meminimalisir adanya pertumbuhan bakteri yang dapat menurunkan kualitas susu, khususnya terkait dengan penelitian ini yaitu meminimalisir pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* yang memiliki suhu minimum pertumbuhan 6,7°C (Supardi dan Sukamto, 1999) atau 6-7°C (Srikandi Fardiaz, 1992). Meskipun dalam hal ini juga terdapat perbedaan pernyataan bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki suhu tumbuh minimum 4°C (Adam and Moss, 1995).

Penelitian lain menyebutkan bahwa beberapa hari saat penyimpanan susu pasteurisasi dapat mengalami kerusakan meskipun penyimpanannya dilakukan di dalam *refrigerator* pada suhu 4°C. Ini terbukti dari hasil penelitian Ningrum (2005) yang menunjukkan bahwa, penyimpanan susu pasteurisasi selama tiga hari pada suhu *refrigerator* 4°C mengakibatkan kandungan bakteri susu pasteurisasi mengalami peningkatan (dari  $39 \times 10^3 \pm 8,9 \times 10^3$  cfu/ml menjadi  $30 \times 10^4 \pm 7,5 \times 10^4$  cfu/ml). Kandungan bakteri susu pasteurisasi yang diperbolehkan untuk dikonsumsi harus memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-6366-2000 yaitu  $< 3 \times 10^4$  cfu/ml (Martiani, 2006).

Peningkatan kandungan bakteri menyebabkan kerusakan pada susu. Martiani (2006) menyebutkan bahwa kerusakan susu pasteurisasi komersial selama enam hari pada penyimpanan suhu 4°C disebabkan oleh dominasi aktivitas psikrofil. Penurunan kualitas atau kerusakan susu pasteurisasi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan keracunan akibat kontaminasi yang ditandai dengan mual, muntah, dan kram perut (Millitois dan Bier, 2003) atau dengan kata lain bisa menyebabkan keracunan konsumsi susu kemasan seperti yang pernah terjadi di Kediri 2011 lalu ([Media Indonesia, 28/10/2011](#)). Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* maksimal  $1 \times 10^1$  cfu/ml pada susu pasteurisasi. Dalam hal ini, jumlah pertumbuhan

bakteri *Staphylococcus aureus* pada susu pasteurisasi komersial selama penyimpanan suhu 4°C yang kemasannya sudah dibuka belum diteliti sebelumnya, sehingga perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh penyimpanan suhu 4°C dan waktu penyimpanan pada susu pasteurisasi komersial dalam kemasan yang sudah dibuka terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah penyimpanan suhu 4°C dan waktu penyimpanan pada susu pasteurisasi komersial dalam kemasan yang sudah dibuka berpengaruh terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui pengaruh penyimpanan pada suhu 4°C dan waktu penyimpanan pada susu pasteurisasi komersial dalam kemasan yang sudah dibuka terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Mendeteksi jumlah pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada susu pasteurisasi komersial merek X, Y, dan Z dalam kemasan yang sudah dibuka selama penyimpanan hari ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4 pada suhu 4°C.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Bagi Masyarakat

Bahan informasi bagi masyarakat tentang tingkat keamanan susu pasteurisasi komersial yang kemasannya sudah dibuka yang disimpan pada suhu 4°C dan lebih dari 24 jam.

1.4.2 Bagi Akademik

Sebagai bahan tambahan dalam pengembangan ilmu gizi dan bisa untuk penelitian lebih lanjut



## BAB 2

## TINJAUAN PUSTAKA

**2.1 Komposisi dan Nilai Gizi Susu**

Susu merupakan minuman kesehatan yang berasal dari hewan dengan kandungan gizi lengkap sehingga dapat berfungsi sebagai bahan pembangun tubuh (Martiani, 2006). Komposisi susu sangat bervariasi, tergantung beberapa faktor, akan tetapi pada dasarnya mengandung komponen-komponen gizi yang sama (Eka Jayasari, 2006). Kandungan rata-rata komponen susu disajikan pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1. Kandungan Rata-Rata Komponen Susu**

Komponen Susu	Rata-Rata Nilai Gizi Susu (%)
Air	87,1
Laktosa	5
Lemak	3,9
Protein	3,3
Mineral	0,7
<i>Solid Non Fat (SNF)</i>	9
Padatan	12
Enzim	Dalam jumlah sedikit
Vitamin	Dalam jumlah sedikit

Sumber : Potter dan Hotchkiss (1995)

Seperti terdapat dalam Tabel 2.1 susu mengandung bahan atau komponen penting untuk tubuh manusia diantaranya protein, lemak, laktosa, mineral, vitamin, dan enzim.

**2.1.1 Laktosa**

Laktosa merupakan senyawa karbohidrat utama dalam susu. Fungsi utamanya pada berbagai produk susu adalah sebagai substrat fermentasi. Laktosa dapat dihidrolisa menjadi glukosa dan galaktosa oleh aktivitas enzim laktase. Enzim ini dapat membantu pertumbuhan bakteri asam laktat sehingga dapat menekan bakteri patogen dan pembusuk. Enzim laktase juga dapat menghidrolisa lak-

tosa dengan menghasilkan produk susu rendah laktosa sehingga susu tersebut aman dikonsumsi bagi penderita intoleransi laktosa (Widodo, 2003).

### 2.1.2 Lemak

Menurut Varnam dan Sutherland (1994), hampir 98% lemak susu tersusun dari trigliserida. Selebihnya terdiri dari monogliserida, digliserida, fosfolipid, asam lemak bebas, kolesterol ester, dan kolesterol. Shiddieqy (2004) menambahkan, bahwa trigliserida tersusun dari satu molekul gliserol dengan tiga molekul asam lemak melalui ikatan ester. Asam lemak susu berasal dari aktivitas mikrobiologi dalam rumen atau dari sintesis sel sekretori. Asam lemak susu mengandung asam lemak esensial, asam linoleat, dan asam linolenat yang mempunyai bermacam-macam fungsi dalam metabolisme dan mengontrol berbagai proses fisiologi dan biokimia pada manusia.

### 2.1.3 Protein

Protein utama susu adalah kasein (80% protein susu). Kasein ini terdiri dari  $\alpha$ -kasein,  $\beta$ -kasein dan  $\kappa$ -kasein. Kasein penting dikonsumsi karena mengandung asam amino esensial dan mudah dicerna, komposisi asam aminonya yang tepat penting untuk pertumbuhan dan perkembangan. Komponen lain protein susu adalah protein *whey*. Komponen utama protein *whey* yaitu  $\beta$ -laktoglobulin dan  $\alpha$ -laktalbumin.  $\alpha$ -laktalbumin jumlahnya mencapai 4-5% dari protein susu, sedangkan  $\beta$ -laktoglobulin jumlahnya sangat sedikit (Idris, 2003).

### 2.1.4 Mineral

Kalsium merupakan mineral utama yang terdapat dalam susu. Di samping untuk pertumbuhan, kalsium juga penting untuk memperkuat tulang dan gigi (Varnam dan Sutherland, 1994). Mineral lain yang terkandung di dalam susu yaitu kalium, natrium, magnesium, klor, dan fosfat (Walstra, dkk 1999).

### 2.1.5 Enzim

Enzim merupakan senyawa biokatalis. Aktivitas enzim dapat menyebabkan perubahan-perubahan di dalam susu. Enzim-enzim yang terkandung di dalam susu yaitu enzim lipase, *phosphatase*, katalase, laktase, galaktase, reduktase, dan diastase (Idris, 2003; Widodo, 2003).

### 2.1.6 Vitamin

Kandungan vitamin dalam susu sangat lengkap meskipun dalam jumlah yang relatif sedikit. Di samping vitamin yang larut dalam lemak (vitamin A, D, E, dan K), susu juga mengandung vitamin yang larut di dalam air (vitamin C, B kompleks). Sebagian vitamin-vitamin susu mudah mengalami kerusakan selama proses pengolahan dan penyimpanan (Idris, 2003)

## 2.2 Kualitas Susu

Susu dikatakan berkualitas apabila mempunyai penampakan, aroma, dan rasa yang normal. Menurut Idris (2003), susu normal berwarna putih sampai kekuningan. Apabila kandungan lemaknya sangat rendah maka susu berwarna kebiruan. Susu mempunyai rasa yang khas, bersifat volatil dan mudah menghilang apabila dibiarkan di tempat terbuka. Susu harus bersih dan tidak mengandung bahan tambahan. Adanya bahan tambahan yang terlalu banyak di dalam susu dapat menunjukkan bahwa penanganan susu tidak higienis. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kualitas susu segar yaitu jenis ternak, pakan, kesehatan ternak, penanganan, kebersihan, dan kesehatan peternak atau perusahaan susu (Anonymous, 1998a).

Standar kualitas susu segar berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-6366-2000 dan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3141-1998 dijelaskan pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2. Standar Kualitas Susu Segar**

	<b>Karakteristik</b>	<b>Syarat</b>
1	Berat jenis pada suhu 27,5° C	1,0280 (minimum)
2	Kadar lemak	3,0% (minimum)
3	Kadar bahan kering tanpa lemak	8,0% (minimum)
4	Kadar protein	2,7% (minimum)
5	Warna, bau, rasa, dan kekentalan	Tidak ada perubahan
6	Derajat keasaman	6-7° SH
7	Uji alkohol 70%	Negatif
8	Uji katalase	3 cc (maksimum)
9	Angka refraksi	36-38
10	Angka reduktase	2-5 jam
11	Cemaran mikroorganisme	
	a. <i>TPC</i>	1x10 <sup>6</sup> cf/ml (maksimum)
	b. <i>Coliform</i>	2x10 <sup>1</sup> cfu/ml (maksimum)
	c. <i>Escherichia coli</i>	0
	d. <i>Enterococci</i>	1x10 <sup>2</sup> cfu/ml (maksimum)
	e. <i>Staphylococcus aureus</i>	1x10 <sup>2</sup> cfu/ml (maksimum)
	f. <i>Clostridium sp</i>	0
	g. <i>Listeria sp</i>	0
	h. <i>TPC</i>	0
	i. <i>Coliform</i>	0
	j. <i>Escherichia coli</i>	0
12	Cemaran logam berbahaya	
	a. Timbal	0,3 ppm (maksimum)
	b. Seng	0,5 ppm (maksimum)
	c. Merkuri	0,5 ppm (maksimum)
	d. Arsen	0,5 ppm (maksimum)
13	Residu antibiotic	Negatif
14	Kotoran dan benda asing	Negatif
15	Uji pemalsuan	Negatif
16	Titik beku	-0,52° C sampai dengan -0,56° F
17	Uji peroksidase	Positif

Sumber : Badan Standardisasi Nasional

## 2.3 Susu Pasteurisasi

### 2.3.1 Proses Pasteurisasi

Menurut Varnam dan Sutherland (1994), proses pasteurisasi susu merupakan proses pemanasan dengan menggunakan suhu dan periode waktu tertentu serta menghindari kontaminasi ulang selama proses pemanasan dengan tetap meminimalkan perubahan kimia, fisik, dan organoleptik pada produk. Selain itu pasteurisasi dilakukan dengan tujuan membunuh semua mikroorganisme patogen dan sebagian mikroorganisme pembusuk, serta menginaktifkan enzim-enzim yang berada di dalam susu, sehingga dapat memperpanjang masa simpan de-

ngan tidak mengurangi cita rasa dan nilai gizi yang terkandung di dalamnya (Martiani, 2006). Namun, proses pasteurisasi dapat merusak enzim alkalin *phosphatase* yang tidak diinginkan dan membunuh sebagian besar bakteri pembusuk (Martiani, 2006).

Enzim alkalin *phosphatase* dapat dijadikan indikator kesempurnaan proses pasteurisasi melalui hidrolisis ester pada suhu dan pH yang sesuai atau biasa disebut uji *phosphatase*. Aktivitas *phosphatase* yang tinggi menandakan bahwa proses pasteurisasi kurang sempurna dengan ditandai adanya perubahan warna pada susu (Murthy, dkk, 1992). Berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3141-1998 uji *phosphatase* pada susu pasteurisasi harus bernilai negatif atau tidak ada perubahan warna susu.

Menurut Griffiths (2000) dan Martiani (2006), proses pasteurisasi dibagi menjadi dua metode yaitu :

1. Metode LTLT (*Low Temperature Long Time*)

Salah satu contoh dari metode ini adalah *Batch (Holding System)*. Prinsip kerja metode *Batch* adalah dengan menaikkan suhu susu sambil diaduk, dengan demikian setiap partikel susu akan mengalami proses pemanasan. Suhu dan waktu yang diperlukan untuk proses pasteurisasi sistem *Batch* adalah minimal 65° C dipertahankan selama tidak kurang dari 30 menit.

2. Metode *Continuous (HTST)*

Metode *Continuous* disebut juga dengan metode *High Temperature Short Time (HTST)*. Metode ini menggunakan *Plate Heat Exchanger (PHE)* yaitu sebuah alat yang tersusun atas serangkaian plat-plat tipis bergelombang yang direkayasa sedemikian rupa sehingga susu me-

ngalir bersebelahan dengan media panas dan dengan arah berlawanan. Kombinasi suhu dan waktu yang digunakan bervariasi dengan syarat minimum 72° C selama tidak kurang dari 15 detik. Metode ini dapat dengan baik mempertahankan cita rasa, warna, vitamin pada susu.

### 3. Metode UHT (*Ultra High Temperature*)

Merupakan metode dengan pemanasan suhu tinggi, yaitu 138°C sampai 150°C (280°F sampai 302°F) selama 1 atau 2 detik (Britannica encyclopedia, 2012). yang segera didinginkan pada suhu 10°C dan dapat membunuh bakteri patogen sehingga dapat memperpanjang masa simpan.



Gambar 2.1 Susu Pasteurisasi Komersial (indofood.com)

#### 2.3.2 Kualitas Susu Pasteurisasi

Menurut Anonimus (1998a), ada tiga cara dalam menentukan kualitas susu pasteurisasi, yaitu :

##### 1. Secara fisik

Secara fisik susu pasteurisasi harus bersih, tidak ada pencampuran bahan-bahan lain yang bersifat menurunkan kualitas susu dan tidak ada penyimpangan *flavor* maupun warna.

2. Secara kimia

Proses pemanasan yang terlalu lama dengan menggunakan suhu yang tinggi dapat menyebabkan kasein menggumpal. Pada keadaan ini, susu pasteurisasi tidak dapat diharapkan.

3. Secara mikrobiologi

Kualitas mikrobiologi susu pasteurisasi dipengaruhi oleh kualitas mikrobiologi susu segar, penanganan dan proses pasteurisasi khususnya sanitasi dan *hygiene*. Kualitas mikrobiologi susu pasteurisasi ditunjukkan oleh jumlah bakteri yang terkandung di dalamnya (Lukman, 2004). Kandungan mikrobiologi susu pasteurisasi harus memenuhi standar yang telah ditentukan (Martiani, 2006). Standar kualitas susu pasteurisasi disajikan pada tabel 2.3.

**Tabel 2.3 Standar Kualitas Susu Pasteurisasi**

	<b>Karakteristik</b>	<b>Standar kualitas</b>
1	Kadar kering tanpa lemak	
	a. Tanpa penambahan cita rasa	7,7% b/b (minimum)
	b. Penambahan cita rasa	7,5% b/b (minimum)
2	Kadar protein	2,5% b/b (minimum)
3	Warna, bau, rasa	Khas
4	Cemaran mikroorganisme	
	a. <i>TPC</i>	$<3 \times 10^4$ cfu/ml
	b. <i>Coliform</i>	$<0,1 \times 10^1$ cfu/ml
	c. <i>Escherichia coli</i>	0
	d. <i>Enterococci</i>	$1 \times 10^2$ cfu/ml
	e. <i>Staphylococcus aureus</i>	$1 \times 10^1$ cfu/ml
	f. <i>Clostridium sp</i>	0
	g. <i>Listeria sp</i>	0
5	Cemaran logam berbahaya	
	a. Timbal	0,3 ppm
	b. Seng	0,5 ppm
	c. Arsen	0,5 ppm
6	Residu antibiotik	Negatif
7	Titik beku	$<0,515^\circ$ C
8	Uji <i>peroksidase</i>	Negatif
9	Uji <i>phosphatase</i>	Negatif
10	Bahan pengawet, pemantap, zat warna, dan cita rasa	Sesuai dengan peraturan yang berlaku

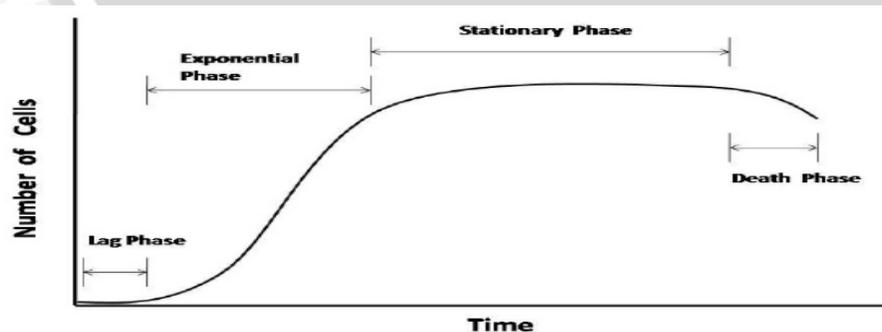
Sumber : Martiani (2006)

### 2.3.3. Penurunan Kualitas Selama Penyimpanan

Selama penyimpanan susu pasteurisasi, akan terjadi aktivitas-aktivitas salah satunya adalah aspek pertumbuhan mikroba ataupun aktivitas *non*-mikroba dan hal-hal tersebut dapat menyebabkan kerusakan pada susu pasteurisasi. Walstra *et al.* (1999) menyatakan bahwa kerusakan susu pasteurisasi secara fisik ditandai dengan naiknya globula lemak ke permukaan, terjadinya penggumpalan dan aroma yang tidak segar, sedangkan kerusakan kimia ditandai dengan adanya oksidasi lemak dan *sunlight flavor*. Secara mikrobiologi, susu pasteurisasi dianggap rusak apabila menunjukkan penyimpangan yang melewati ambang batas parameter yang telah ditentukan (Martiani, 2006).

Penyebab turunnya kualitas susu pasteurisasi menurut Griffiths (2000), yaitu pertumbuhan mikroorganisme di dalam susu setelah proses pasteurisasi, aktivitas enzim *thermoresistent*, pertumbuhan mikroorganisme *thermoresistent*, dan kontaminasi setelah pasteurisasi.

Pertumbuhan sendiri dapat didefinisikan sebagai penambahan jumlah atau volume serta ukuran sel. Pada organisme prokariot seperti bakteri, pertumbuhan merupakan penambahan volume dan ukuran sel dan juga sebagai penambahan jumlah sel. Pertumbuhan sel bakteri biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan sigmoid (Jay *et al.*, 2005)



Gambar 2.2 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme (Mugiyanto, 2011)

Keterangan :

- a. Fase *Lag* adalah fase terjadinya perubahan bentuk dan pertumbuhan jumlah individu yang tak secara nyata terlihat karena fase ini dapat juga dinamakan sebagai fase adaptasi (penyesuaian). maka dari itu apabila dilihat pada kurva pertumbuhan mikroba, grafik selama fase ini umumnya mendatar. Ini disebabkan tidak atau belum adanya sumber nutrisi untuk makanan mikroba (Saputra, 2011).
- b. Fase Logaritmik adalah fase setelah setiap individu mengalami penyesuaian diri dengan lingkungan baru selama fase *lag*, maka mulailah mengadakan perubahan bentuk dan meningkatkan jumlah sel sehingga apabila dilihat dalam kurva akan tampak meningkat dengan tajam. Namun peningkatan ini harus diimbangi dengan beberapa faktor, di antaranya adanya kandungan sumber nutrisi sebagai bahan makanan pada mikroba tersebut. Apabila tidak ada kandungan sumber nutrisi maka mikroba tidak akan berkembang biak dan kurva juga tidak akan menunjukkan peningkatan (Saputra, 2011).
- c. Fase Stationer adalah fase terjadinya pengurangan sumber nutrisi. Artinya, sumber nutrisi yang ada untuk mikroba mengalami kehabisan atau tidak ada sehingga mikroba tidak bisa melakukan pertumbuhan namun juga tidak secara langsung mengalami kematian. Maka dari itu kurva grafik mendatar, artinya tidak naik karena tidak adanya pertumbuhan dan tidak turun karena tidak secara langsung mengalami kematian (Saputra, 2011).
- d. Fase Kematian (*Death*) adalah fase akhir dari suatu jumlah individu yang kembali ke titik awal. Ini disebabkan mikroba sudah tidak mampu bertahan hidup selama stasioner (yang tidak mendapatkan sumber nu-

trisi). Ditunjukkan adanya grafik penurunan yang tajam. (Saputra, 2011)

### **Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri :**

#### **a. Faktor Intrinsik**

Faktor intrinsik adalah sifat-sifat fisik, kimia, dan struktur makanan yang mempengaruhi populasi dan pertumbuhan mikroorganisme, seperti : adanya kandungan nutrisi yang oleh bakteri menggunakan makanan sebagai sumber nutrisi dan energi untuk pertumbuhan. Beberapa produk makanan seperti jus tomat, ekstrak malt, dan daging dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri. Konsentrasi nutrisi sangat menentukan pertumbuhan bakteri. pH (*Power of Hydrogen*) yaitu keasaman atau kealkalian dari lingkungan hidup bakteri berefek pada aktivitas dan stabilitas makromolekul seperti enzim metabolisme dari bakteri. Secara umum, bakteri dapat tumbuh dengan baik pada rentang pH 6-8. (Adam and Moss, 2008). Selain itu juga terdapat faktor intrinsik lain yang mempengaruhi seperti potensial redoks, kandungan antimikroba, dan aktivitas air.

#### **b. Faktor Ekstrinsik**

##### **1. Kelembaban relatif lingkungan**

Kelembaban penting untuk mengukur aktivitas air dari fase gas. Ketika komoditas makanan bakteri banyak dalam lingkungan dengan kelembaban tinggi, air akan ditransfer dari fase gas untuk menjadi makanan (Adam and Moss, 2008).

##### **2. Suhu**

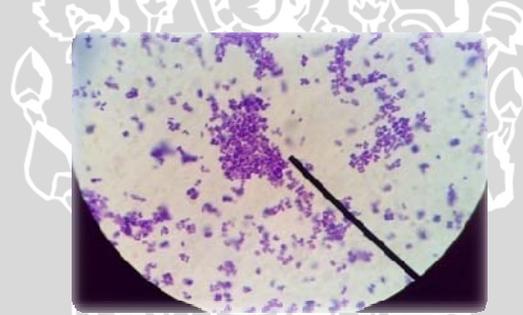
Pertumbuhan bakteri berkisar antara  $-8^{\circ}\text{C}$  -  $100^{\circ}\text{C}$  pada tekanan atmosfer. Suhu berpengaruh terhadap kecepatan pertumbuhan bakteri serta reaksi enzim (Adam and Moss, 2008).

3. Tekanan atmosfer

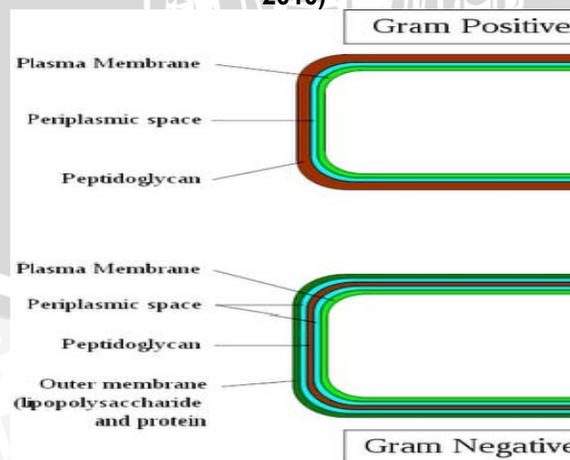
Berhubungan dengan perkembangan dan kecepatan pertumbuhan seperti tekanan CO<sub>2</sub> lingkungan (Adam and Moss, 2008)

**2.3.4 Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Negatif**

Gram positif dan gram negatif adalah klasifikasi bakteri yang dibedakan dari ciri- ciri fisik bakteri tersebut. perbedaan yang mendasar terdapat pada peptidoglikan yang terkandung dalam dinding sel kedua bakteri tersebut. Pada bakteri gram positif lapisan peptidoglikannya lebih tebal, sedangkan pada gram negatif lapisan peptidoglikan lebih tipis. Sehingga saat identifikasi dengan pewarnaan bakteri gram positif akan berwarna sedangkan bakteri gram negatif warna akan hilang saat disiram etanol (Purwanti, 2012).



Gambar 2.3 Pewarnaan Gram pada *Staphylococcus aureus* (Kuspriyadani, 2010)



Gambar 2.4 Perbedaan Dinding Sel Bakteri Gram Positif dan Negatif (Purwanti, 2012).

Berikut penjabaran perbedaan karakteristik antara bakteri gram positif dan gram negatif:

#### 1. Dinding sel

- Gram positif: homogen dan tebal ( 20-80 nm) sebagian besar tersusun dari peptidoglikan sebagian lagi terdiri dari polisakarida lain dan asam teikat.
- Gram negatif: terdiri lapisan membran luar dan membran dalam, diantaranya terdapat lapisan peptidoglikan setebal 2-7 nm, tebal membran luar 7-8 nm tersusun dari polisakarida, lipid, dan protein. (Purwanti, 2012).

#### 2. Bentuk sel

- Gram positif: bulat, batang atau filamen
- Gram negatif: bulat, oval, batang lurus atau melingkar seperti koma, heliks atau flamen, dan beberapa memiliki kapsul pelindung. (Purwanti, 2012).

#### 3. Reproduksi

- Gram positif : pembelahan biner
- Gram negatif : pembelahan biner, kadang pertunasan (Purwanti, 2012).

#### 4. Metabolisme

- Gram positif: kemoorganoheterotrof
- Gram negatif: fototrof, kemolitototrof, kemoorganoheterotrof (Purwanti, 2012).

#### 5. Motilitas (flagela/ alat gerak)

- Gram positif: kebanyakan non motil, bila memiliki motil maka tipe flagelanya adalah petritrikus
- Gram negatif: motil dan non motil, bentuk flagela bervariasi, polar, iopotrikus dan petritrikus (Purwanti, 2012).

Bakteri gram negatif lebih berbahaya saat menimbulkan penyakit dibanding gram positif karena bakteri jenis gram negatif dapat menghasilkan endotok-

sin, dan memiliki enzim pada kapsula yang dapat menimbulkan resistensi terhadap antibiotik (Purwanti, 2012).

Bakteri yang menyebabkan penurunan kualitas susu pasteurisasi yaitu:

#### 1. *Heat Resistant Bacteria*

*Heat Resistant Bacteria* terdiri dari *Microbacterium Lactum*, *Thermophilic Streptococci* dan spesies tertentu dari *Micrococcus*. Bakteri ini tidak membentuk spora tetapi sel vegetatifnya tahan suhu pasteurisasi. Aktivitas enzim proteolitik *Heat Resistant Bacteria* dapat menyebabkan rasa pahit dan aroma tengik pada susu pasteurisasi. (Walstra *et al.*, 1999; Frankish, 2001)

#### 2. Bakteri Asam Laktat (BAL)

BAL merupakan bakteri gram positif kokus atau batang, tidak membentuk spora dan katalase negatif. Bakteri ini sebagian besar memproduksi asam laktat dari laktosa. BAL dari kelompok mesofil tidak tahan suhu pasteurisasi, berbeda dengan BAL dari kelompok termofil yang tahan suhu pasteurisasi. Keberadaan BAL di dalam susu pasteurisasi dapat menyebabkan keasaman meningkat, koagulasi dan pembentukan aroma diasetil dan aldehid (Walstra *et al.*, 1999; Widodo, 2003).

#### 3. *Coliform*

*Coliform* termasuk *Enterobacteriaceae* yang dapat menurunkan kualitas susu setelah proses pasteurisasi. Pada suhu 20°C, *Coliform* dapat mendegradasi protein dan laktosa dengan menghasilkan gas dan *flavor unclear* (Walstra *et al.*, 1999; Murray, 2001).

#### 4. Psikrofil

Psikrofil merupakan gram negatif berbentuk batang dari golongan *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium*, dan *Alcaligenes*. Bak-

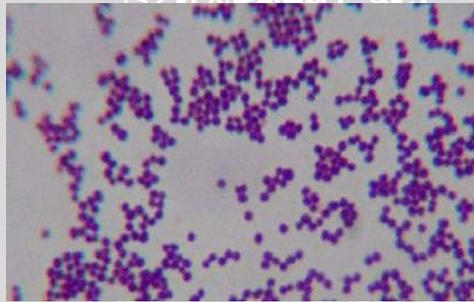
teri ini tumbuh dengan baik pada suhu  $<18^{\circ}\text{C}$ , psikrotrofil dapat menghasilkan protease dan lipase dengan cara mendegradasi protein dan lemak. Protease yang dihasilkan *Pseudomonas* dapat menyebabkan rasa pahit pada susu, sedangkan degradasi lemak oleh lipase dapat menyebabkan susu berbusa, aroma tengik dan bau busuk. Psikrotrofil gram negatif juga dapat tumbuh selama penyimpanan melalui rekontaminasi dan enzim yang diproduksi secara terus-menerus mendegradasi susu. Gram negatif psikrotrofil tidak akan menyebabkan susu busuk jika jumlahnya belum mencapai  $10^7$  cfu/ml (Cox, 2001; Early, 1998; Walstra *et al.*, 1999) dan apabila jumlah bakteri mencapai  $10^8$  cfu/ml, bakteri ini akan memasuki fase pertumbuhan statis dan mulai menghasilkan enzim ekstraseluler protease dan lipase. Enzim ini dapat menyebabkan perubahan organoleptik yang sangat nyata.

##### 5. *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* merupakan bakteri gram positif berbentuk batang dan dapat membentuk spora. Bakteri ini dapat menyebabkan *sweet curdling*, *bitty cream*, dan *flavor* menyimpang (Adam and Moss, 2000; Walstra *et al.*, 1999).

Di samping dapat merubah kualitas atau merusak susu pasteurisasi, bakteri juga dapat memproduksi toksin yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia yaitu *Salmonella* sp, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. *Salmonella* sp merupakan bakteri berbahaya yang dikeluarkan dari saluran pencernaan hewan dan manusia bersama dengan feses, *Salmonella enteritidis* merupakan salah satu serotipe yang sering mengontaminasi susu di samping *Salmonella typhimarium* (Suwito, 2010). *Escherichia coli* termasuk bakteri berbahaya karena dapat menyebabkan diare dan tidak boleh ada dalam susu (Suwito, 2010). *Sta-*

*phylococcus aureus* adalah bakteri koki gram positif dan jika diamati di bawah mikroskop akan tampak dalam bentuk bulat tunggal atau berpasangan, atau berkelompok seperti buah anggur. *Staphylococcus aureus* termasuk dalam famili *Staphylococcaceae*, berukuran diameter 0.5-1.5  $\mu\text{m}$  dan membentuk pigmen kuning keemasan. Bakteri ini tidak membentuk spora, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, non motil, koagulase dan katalase positif, mampu memfermentasi manitol serta mampu menjalankan dua macam metabolisme yaitu respirasi maupun fermentasi (Bennet dan Monday dalam Miliotis dan Bier, 2003; Jay, 2000). Terutama terdapat pada kulit, kelenjar kulit, dan membran mukosa dari mamalia dan burung (Murray, 2006)



**Gambar 2.5 Bakteri Koki Gram Positif (hicsigwiki.asid.net.au)**

Kontaminasi *S. aureus* pada makanan dapat menyebabkan keracunan (intoksikasi). Hal ini disebabkan karena bakteri tersebut mampu menghasilkan toksin yang berupa enterotoksin di dalam saluran pencernaan. Enterotoksin dapat diproduksi apabila kondisi lingkungan mendukung untuk pertumbuhan dan perkembangan bakteri tersebut, seperti pH dan suhu (Miliotis dan Bier, 2003). Gejala awal dari keracunan makanan akibat enterotoksin stafilokoki umumnya berlangsung selama 2-6 jam atau pada masa inkubasi 30 menit sampai 7 jam setelah mengonsumsi makanan yang mengandung enterotoksin (atau rata-rata terjadi pada 2-4 jam), tergantung dari ketahanan individu masing-masing. Gejala keracunan ditandai dengan mual, muntah, kram perut. Pada kasus yang lebih

serius ditandai dengan pusing, kram otot dan perubahan transien pada tekanan darah. Pemulihan umumnya terjadi selama 2-3 hari atau lebih. Kematian akibat enterotoksin stafilokoki jarang terjadi (Millotis dan Bier, 2003). Akibat keracunan stafilokoki, rata-rata korban yang masuk rumah sakit mencapai 18% dengan nilai fatalitas 0.02%. Kerentanan terhadap keracunan ini bisa terjadi pada setiap orang, namun biasanya menyerang anak-anak dan orangtua. Namun intensitas timbulnya gejala pada masing-masing individu berbeda tergantung dari jumlah makanan yang dimakan dan kerentanan terhadap toksin. *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh dengan suhu minimum 6,7°C (Supardi dan Sukamto, 1999) atau 6-7°C (Srikandi Fardiaz, 1992) dan suhu maksimum 45,5°C (Supardi dan Sukamto, 1999). Bakteri ini dapat tumbuh pada pH 4,0-9,8 dengan pH optimum sekitar 7,0-7,5. Pertumbuhan dengan pH 9,8 hanya mungkin bila substratnya mempunyai komposisi yang baik untuk pertumbuhannya (Supardi dan Sukamto, 1999) tetapi pernyataan lain menyatakan bahwa suhu tumbuh minimum *Staphylococcus aureus* adalah 4°C (Adam and Moss, 1995).

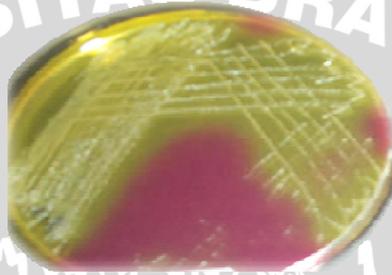


**Gambar 2.6 Koloni *Staphylococcus aureus* pada Media MSA Berbentuk Bulat dan Tampak Mengkilap (Wira, 2008)**

## **2.4 Media Selektif**

MSA (*Manitol Salt Agar*) merupakan media selektif untuk identifikasi *Staphylococcus*. Konsentrasi garam yang tinggi (7,5%) sesuai untuk anggota genus *Staphylococcus*, karena mereka dapat mentolerir tingkat garam yang tinggi. MSA juga mengandung manitol gula dan indikator pH merah fenol. Jika organisme

dapat memfermentasi manitol, maka sebuah produk sampingan asam akan terbentuk dan menyebabkan merah fenol dalam agar-agar menguning. Kebanyakan patogen *Staphylococcus*, seperti *Staphylococcus aureus*, akan memfermentasi manitol. Kebanyakan non-patogen *Staphylococcus* tidak akan memfermentasi manitol (austincc.edu). Pada media MSA, *Staphylococcus aureus* akan tumbuh dengan menghasilkan koloni yang berwarna kuning keemasan dan media tanam berubah menjadi warna kuning (Wira, 2008)

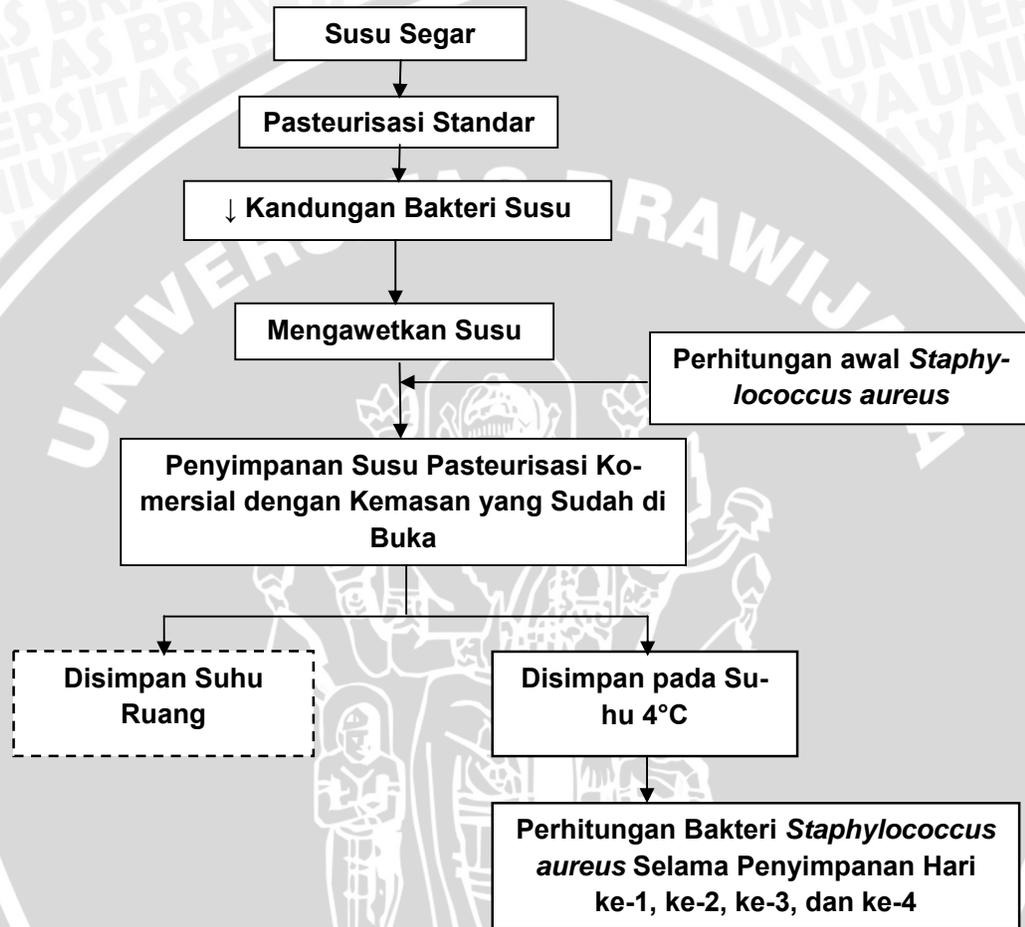


**Gambar 2.7 *Staphylococcus aureus* memfermentasi manitol dan mengubahnya menjadi warna kuning (lifesci.rutgers.edu)**

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka Konsep

▭ = diteliti  
▭ (dashed) = tidak diteliti

Susu segar yang telah diberi perlakuan pasteurisasi standar dengan sempurna akan mengalami pengurangan jumlah mikroorganisme (Hassan dkk, 2009) dan diharapkan menghasilkan susu yang dapat disimpan tanpa mengalami kerusakan karena adanya pertumbuhan atau kontaminasi bakteri (Martiani, 2006) dalam penelitian ini dilakukan pemeriksaan awal jumlah *Staphylococcus aureus* untuk mengetahui kemungkinan adanya *Staphylococcus aureus* setelah pasteurisasi. Setelah kemasan susu pasteurisasi dibuka muncul kekhawatiran adanya pertumbuhan atau kontaminasi *Staphylococcus aureus*, maka segera dilakukan penyimpanan pada suhu 4°C (Martiani, 2006), akan tetapi cara ini belum dapat memastikan apakah pada penyimpanan 4°C dapat menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* karena adanya perbedaan pernyataan mengenai suhu minimum pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, yaitu pernyataan (Supardi dan Sukamto, 1999) bahwa bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki suhu minimum pertumbuhan 6,7°C atau 6-7°C (Srikandi Fardiaz, 1992) serta pernyataan lain yang menyatakan bahwa suhu tumbuh minimum *Staphylococcus aureus* adalah 4°C (Adam and Moss, 1995) sehingga perlu pembuktian apakah terjadi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada susu pasteurisasi komersial yang kemasan sudah dibuka dalam suhu 4°C selama penyimpanan.

### 3.2 Hipotesis Penelitian

Penyimpanan suhu 4°C dan waktu penyimpanan pada susu pasteurisasi komersial dalam kemasan yang sudah dibuka berpengaruh terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorik menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan duplo dari 3 sampel susu pasteurisasi komersial merek X, merek Y, dan merek Z. Kemudian dibandingkan antara kelompok kontrol dengan kelompok eksperimental. Kelompok kontrol adalah susu pasteurisasi komersial yang kemasan masih tertutup, sedangkan kelompok eksperimental adalah kelompok susu pasteurisasi komersial yang kemasan sudah dibuka dengan cara dilubangi kemudian disimpan pada suhu 4°C. Selama penyimpanan masing-masing merek susu pasteurisasi komersial akan dilakukan perhitungan jumlah koloni *Staphylococcus aureus*.

#### 4.2 Populasi dan sampel

##### 4.2.1 Populasi

Semua susu pasteurisasi kemasan yang dijual di supermarket di Malang.

##### 4.2.2 Sampel

Susu pasteurisasi kemasan merek X, merek Y, merek Z yang dijual di Supermarket Giant di Dinoyo Kota Malang.

##### 4.2.3 Kriteria Inklusi

1. Dibeli dari Giant Supermarket, Dinoyo
2. Susu tidak menggumpal
3. Belum melewati batas kadaluarsa
4. Bentuk kemasan dalam keadaan baik, tidak kembung dan tidak bocor
5. Ukuran 200 ml
7. Aroma susu tidak menyengat

8. Diambil dari penyimpanan suhu ruang
9. Tidak disimpan bersamaan dengan apapun yang bisa menyebabkan susu terkontaminasi

#### 4.2.4 Kriteria Eksklusi

1. Tidak dibeli dari Giant Supermarket, Dinoyo
2. Susu menggumpal
3. Susu telah kadaluarsa
4. Kemasan susu dalam keadaan rusak, kembung dan bocor.
5. Ukuran >200 ml
7. Aroma susu menyengat
8. Susu bukan dari penyimpanan suhu ruang
9. Susu disimpan bersamaan dengan apapun yang bisa menyebabkan susu terkontaminasi

#### 4.2.5 Teknik Pengambilan Sampel

Teknik sampling menggunakan *non-random* sistematis yaitu mendata susu pasteurisasi kemasan kotak pada *display* suhu ruang ukuran 200 ml didapatkan 5 merek kemudian diberi penomoran satu hingga lima yang selanjutnya dilakukan pemilihan sampel pada nomor ganjil.

#### 4.2.6 Perhitungan Pengulangan Sampel

Dalam penelitian ini terdapat 5 perlakuan dan 3 sampel maka jumlah pengulangan untuk masing-masing sampel dihitung berdasarkan rumus :

$$(t-1) (r-1) \geq 15$$

$$(15-1) (r-1) \geq 15$$

$$14r - 14 \geq 15$$

$$14r \geq 29 \quad r \geq 2$$

Keterangan :

t = jumlah perlakuan

r = jumlah pengulangan

Berdasarkan perhitungan di atas maka pada penelitian ini dibutuhkan pengulangan sebanyak 2 kali.

**Tabel 4.1 Pengkodean Kelompok Perlakuan**

Kelompok Perlakuan	Sampel		
	S1 (X)	S2 (Y)	S3 (Z)
P0	X0A X0B	Y0A Y0B	Z0A Z0B
P1	X1A X1B	Y1A Y1B	Z1A Z1B
P2	X2A X2B	Y2A Y2B	Z2A Z2B
P3	X3A X3B	Y3A Y3B	Z3A Z3B
P4	X4A X4B	Y4A Y4B	Z4A Z4B

**Keterangan :**

P0= hari ke-0

S1= susu X

P1= hari ke-1

S2= susu Y

P2= hari ke-2

S3= susu Z

P3= hari ke-3

P4= hari ke-4

**4.3 Variabel Penelitian****4.3.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas penelitian ini adalah lama penyimpanan susu pasteurisasi komersial berbagai merek.

**4.3.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat penelitian ini adalah jumlah koloni *Staphylococcus aureus*

**4.4 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada tanggal 9 sampai 16 Juli 2012 di Laboratorium Penyelenggaraan Makanan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

#### 4.5 Bahan dan Alat Penelitian

##### 4.5.1 Bahan

Bahan yang dibutuhkan adalah susu pasteurisasi komersial, MSA (*Manitol Salt Agar*), alkohol, kapas, larutan pengencer NaCl 0,9%.

##### 4.5.2 Alat

Peralatan yang dibutuhkan adalah cawan petri, pipet, *refrigerator*, alat penghitung koloni, *mixer vortex*, spidol, inkubator, *handscoon*, tabung reaksi, pembakar Bunsen, termometer.

#### 4.6 Definisi Operasional

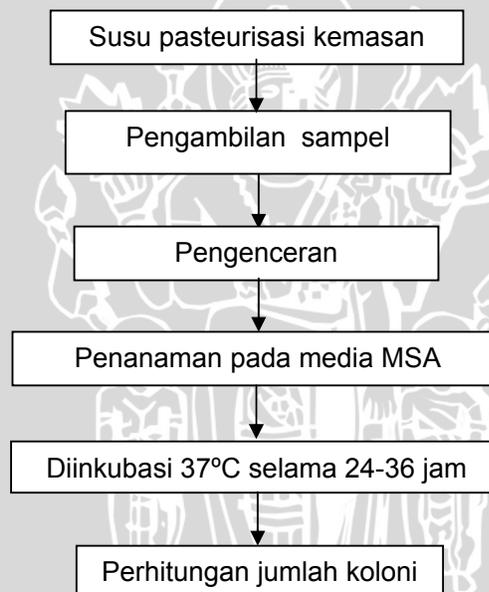
Pada penelitian ini yang dimaksud dengan :

1. Susu pasteurisasi komersial adalah susu pasteurisasi yang dijual dalam kemasan dengan merek X 200 ml, Y 200 ml, Z 200 ml dengan kemasan kertas kotak diambil dari rak suhu ruang yang dibeli di Supermarket Giant, Dinoyo di Malang.
2. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dari segi jumlah koloni pada media *Mannitol Salt Agar*.
3. Waktu penyimpanan susu pasteurisasi adalah lama menyimpan susu pasteurisasi (selama 4 hari).
4. Metode *plate count* adalah metode untuk perhitungan jumlah *Staphylococcus aureus* yang hasilnya dinyatakan dengan satuan *cfu/ml*.
5. Waktu pengamatan yaitu waktu saat melakukan pengamatan jumlah koloni *Staphylococcus aureus*. dimulai dari jam 11 siang.

6. MSA adalah media selektif dengan kandungan garam, manitol gula, dan indikator pH fenol yang digunakan untuk mengidentifikasi koloni dari *Staphylococcus aureus*
7. Uji *Staphylococcus* yaitu uji untuk mengidentifikasi adanya koloni *Staphylococcus aureus* pada media MSA dengan indikasi timbulnya koloni berbentuk bulat, berwarna kuning keemasan, dan MSA berubah warna menjadi kuning.

#### 4.7 Prosedur Penelitian

##### 4.7.1 Prosedur Penelitian pada Hari ke-0



**Gambar 4.1** Prosedur Penelitian pada Hari ke-0

Prosedur penelitian pada hari ke-0

a. Pengambilan sampel

1. Sampel dibeli langsung dari Giant Supermarket di kota Malang.
2. Sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi FKUB untuk dilakukan pengamatan.

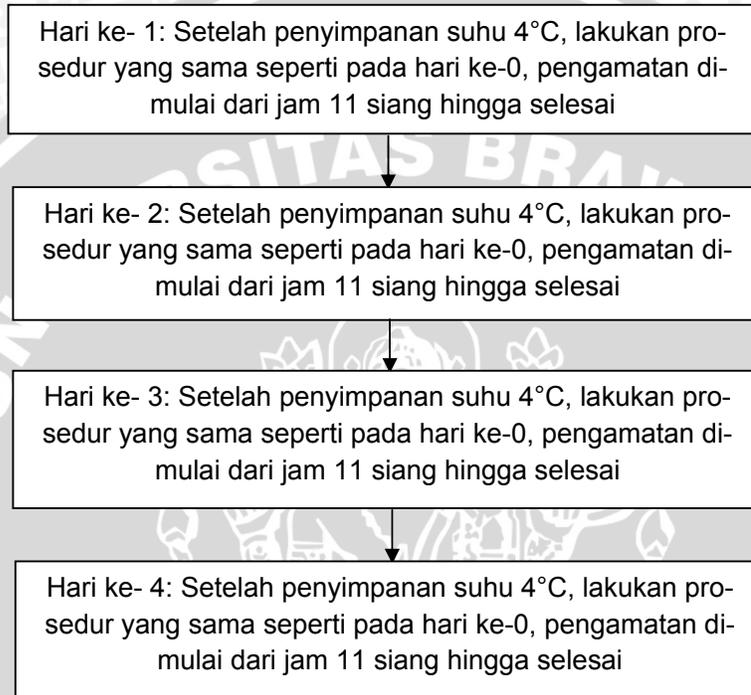
3. Kocok susu agar homogen
  4. Buka kemasan susu dengan cara dilubangi kemudian diambil sampel sebanyak 1 ml
- b. Pengenceran sampel
1. Pada sampel 1 ml dilakukan pengenceran 10% dengan perbandingan 1:9 yang dilakukan secara aseptis pada tabung pengenceran pertama ( $10^{-1}$ )
  2. Kocok sampai homogen lalu ambil 1 ml dari tabung  $10^{-1}$  dengan pipet, pindah ke tabung lain sebagai tabung pengenceran kedua ( $10^{-2}$ ) kemudian juga dilakukan pengenceran 10% dengan perbandingan 1:9 yang dilakukan secara aseptis.
  3. Kocok sampai homogen lalu ambil 1 ml dari tabung  $10^{-2}$  dengan pipet, pindah ke tabung lain sebagai tabung pengenceran ketiga ( $10^{-3}$ ) kemudian juga dilakukan pengenceran 10% dengan perbandingan 1:9 yang dilakukan secara aseptis.
- c. Penanaman sampel
1. Penanaman dengan metode tuang yaitu dengan mengambil 1 ml dari setiap pengenceran
  2. Tuang 1 ml secara aseptis ke dalam cawan kosong steril
  3. Ditambah agar MSA cair steril yang telah didinginkan sebanyak 15-20 ml suhu  $>45^{\circ}\text{C}$
  4. Dihomogenisasi.
- d. Inkubasi

Setelah agar memadat, cawan petri dimasukkan ke dalam inkubator  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-36 jam (masa inkubasi).

e. Hitung Koloni

Setelah diinkubasi, dilakukan perhitungan koloni yang terbentuk pada cawan petri dengan *colony counter*.

#### 4.7.2 Prosedur Penelitian setelah dilakukan Penyimpanan



**Gambar 4.2** Prosedur Penelitian setelah dilakukan Penyimpanan

Prosedur penelitian setelah dilakukan penyimpanan

- a. Hari ke-1: Pada susu dengan kemasan yang sudah dibuka dengan cara dilubangi dan telah disimpan pada suhu 4°C akan dilakukan prosedur mulai dari pengambilan sampel 1 ml, pengenceran, penanaman pada media MSA hingga perhitungan koloni dimulai dari jam 11 siang hingga selesai
- b. Hari ke-2: Pada susu dengan kemasan yang sudah dibuka dengan cara dilubangi dan telah disimpan pada suhu 4°C akan dilakukan prose-

dur mulai dari pengambilan sampel 1 ml, pengenceran, penanamam pada media MSA hingga perhitungan koloni dimulai dari jam 11 siang hingga selesai

- c. Hari ke-3: Pada susu dengan kemasan yang sudah dibuka dengan cara dilubangi dan telah disimpan pada suhu 4°C akan dilakukan prosedur mulai dari pengambilan sampel 1 ml, pengenceran, penanamam pada media MSA hingga perhitungan koloni dimulai dari jam 11 siang hingga selesai
- d. Hari ke-4: Pada susu dengan kemasan yang sudah dibuka dengan cara dilubangi dan telah disimpan pada suhu 4°C akan dilakukan prosedur mulai dari pengambilan sampel 1 ml, pengenceran, penanamam pada media MSA hingga perhitungan koloni dimulai dari jam 11 siang hingga selesai

#### 4.7.3 Prosedur identifikasi *Staphylococcus aureus*

##### a. Pewarnaan Gram

Untuk pewarnaan gram perlu dibuat suspensi kuman dengan air suling pada gelas objek terlebih dahulu. Sesudah kering di udara, difiksasi dengan panas api Bunsen kemudian diwarnai dengan urutan :

1. Tuangi sediaan dengan larutan kristal violet, diamkan selama 1 menit.
2. Buang larutan kristal violet dari sediaan dan bilas dengan air.
3. Tuangi sediaan dengan lugol, diamkan selama 1 menit
4. Buang lugol dari sediaan dan bilas dengan air
5. Tuangi sediaan dengan alkohol 95%-96% dan digoyang-goyangkan sampai tidak terlihat lagi zat warna yang terlarut
6. Buang alkohol 95%-95% dari sediaan dan bilas dengan air

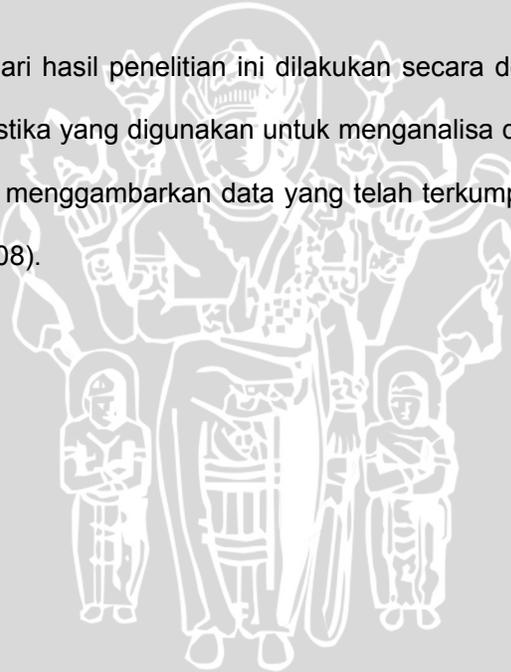
7. Tuangi sediaan dengan safranin, diamkan selama 30 detik
8. Keringkan di udara
9. Sediaan siap dilihat dibawah mikroskop pembesaran 100.

#### b. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan dengan cara memberi tetesan  $H_2O_2$  3% pada sampel. Uji positif ditunjukkan dengan timbulnya buih, uji negatif ditunjukkan dengan tidak adanya buih. Bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil uji katalase positif.

#### 4.8 Analisis Data

Analisis data dari hasil penelitian ini dilakukan secara deskriptif. Analisis deskriptif adalah statistika yang digunakan untuk menganalisa data dengan cara mendeskripsikan atau menggambarkan data yang telah terkumpul sebagaimana adanya (Sugiyono, 2008).



## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 9 Juli 2012 sampai 16 Juli 2012. Sampel susu pasteurisasi komersial kemasan merek X, Y, dan Z dibeli di Giant Supermarket, Dinoyo. Untuk proses penyimpanan dilakukan di Laboratorium Penyelenggaraan Makanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dan untuk pengamatan yang berkaitan dengan *Staphylococcus aureus* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

5.2 Data Karakteristik *Staphylococcus aureus* yang Tumbuh pada MSATabel 5.1 Karakteristik *Staphylococcus aureus*

Variabel Pengamatan	Hasil Pengamatan
Koloni	Bergerombol, kuning, mengkilat, bau menyengat
Gram	(+)
Morfologi	Coccus (bulat)
Uji katalase	(+)

Gambar 5.1 Koloni *Staphylococcus aureus* pada media MSA

Berdasarkan data di atas dapat disimpulkan bahwa bakteri yang tumbuh pada MSA adalah *Staphylococcus aureus*.

**5.3 Jumlah *Staphylococcus aureus* pada Susu Pasteurisasi Komersial pada Hari ke-0 hingga ke-4**

**Tabel 5.2 Hasil Perhitungan Koloni Tiap Harinya pada Susu Pasteurisasi Kemasan yang sudah Dibuka dan Disimpan pada Suhu 4°C.**

Sampel/ Hari	Pengenceran	Hasil Duplo	
		Jumlah Koloni cfu/ml	Jumlah Koloni cfu/ml
X0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
X1	1	2x10 <sup>1</sup>	2x10 <sup>1</sup>
	2	1x10 <sup>2</sup>	1x10 <sup>2</sup>
	3	0	0
X2	1	37x10 <sup>1</sup>	15x10 <sup>1</sup>
	2	3x10 <sup>2</sup>	2x10 <sup>2</sup>
	3	0	0
X3	1	53x10 <sup>1</sup>	19x10 <sup>1</sup>
	2	3x10 <sup>2</sup>	3x10 <sup>2</sup>
	3	0	0
X4	1	58x10 <sup>1</sup>	41x10 <sup>1</sup>
	2	4x10 <sup>2</sup>	3x10 <sup>2</sup>
	3	0	0

Sampel/ Hari	Pengenceran	Hasil Duplo	
		Jumlah Koloni cfu/ml	Jumlah Koloni cfu/ml
Y0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Y1	1	2x10 <sup>1</sup>	2x10 <sup>1</sup>
	2	1x10 <sup>2</sup>	2x10 <sup>2</sup>
	3	0	0
Y2	1	13x10 <sup>1</sup>	7x10 <sup>1</sup>
	2	5x10 <sup>2</sup>	3x10 <sup>2</sup>
	3	0	0
Y3	1	96x10 <sup>1</sup>	71x10 <sup>1</sup>
	2	53x10 <sup>2</sup>	15x10 <sup>2</sup>
	3	0	0
Y4	1	96x10 <sup>1</sup>	57x10 <sup>1</sup>
	2	96x10 <sup>1</sup>	57x10 <sup>1</sup>
	3	0	0

Sampel/ Hari	Pengenceran	Hasil Duplo	
		Jumlah Koloni <i>cfu/ml</i>	Jumlah Koloni <i>cfu/ml</i>
Z0	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
Z1	1	$2 \times 10^1$	0
	2	0	0
	3	0	0
Z2	1	$2 \times 10^1$	$2 \times 10^1$
	2	$2 \times 10^2$	$1 \times 10^2$
	3	0	0
Z3	1	$88 \times 10^1$	$69 \times 10^1$
	2	$13 \times 10^2$	$7 \times 10^2$
	3	0	0
Z4	1	$96 \times 10^1$	$71 \times 10^1$
	2	$30 \times 10^2$	$19 \times 10^2$
	3	0	0

Adanya jumlah koloni 0 *cfu/ml* pada tingkat pengenceran yang lebih tinggi adalah karena proses pengenceran itu sendiri yang berarti proses penjarangan sehingga jumlah koloni akan semakin sedikit, sedangkan perbedaan angka koloni pada hasil *duplo* (replikasi) yang dilakukan adalah karena faktor kemungkinan ada atau tidaknya bakteri pada 1 ml sampel yang diambil dari kemasan susu pasteurisasi.

**Tabel 5.3 Data Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* pada Susu Pasteurisasi Hari ke-0 hingga ke-4 dalam *cfu/ml***

Hari Sampel	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4
X	0	$1,2 \times 10^2$	$5,1 \times 10^2$	$6,6 \times 10^2$	$8,45 \times 10^2$
Y	0	$1 \times 10^1$	$1,7 \times 10^2$	$1,785 \times 10^3$	$3,285 \times 10^3$
Z	0	$1,7 \times 10^2$	$5 \times 10^2$	$4,235 \times 10^3$	$6,115 \times 10^3$

Berdasarkan data di atas, jumlah *Staphylococcus aureus* pada susu pasteurisasi komersial penyimpanan hari ke-0 hingga hari ke-4 pada merek X, Y, dan Z mengalami kenaikan setiap harinya. Semua merek susu pasteurisasi komersial memiliki kandungan koloni *Staphylococcus aureus* yang melebihi batas aman yang telah ditetapkan oleh SNI yaitu  $>10^1$  *cfu/ml*.

## BAB 6

## PEMBAHASAN

### 6.1 Hubungan Lama Penyimpanan Pada Suhu 4°C dengan Jumlah Koloni *Staphylococcus aureus* pada Susu Pasteurisasi Komersial yang Kemasan Sudah Dibuka

Kualitas produk susu pasteurisasi komersial akan mengalami perubahan selama penyimpanan. Dalam hal ini, perubahan yang terjadi adalah penurunan kualitas susu pasteurisasi komersial yang salah satunya ditandai dengan adanya pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, yang masih mungkin terjadi meskipun telah dilakukan penyimpanan pada suhu 4°C, yang merupakan salah satu faktor yang diharapkan dapat mempertahankan kualitas susu dengan cara meminimalkan pertumbuhan bakteri. Suhu 4°C mempunyai peranan dalam penurunan kecepatan pertumbuhan bakteri, karena ketika temperatur diturunkan, kecepatan sintesis protein juga berkurang selain itu terjadi peningkatan ikatan hidrogen intramolekular yang terjadi pada suhu rendah dan mengakibatkan peningkatan lipatan enzim yang mengganggu aktivitas katalis. Dengan kata lain, penurunan sintesis protein bakteri berhubungan dengan penurunan sintesis enzim yang terjadi pada suhu rendah (Jay et al., 2005)

Pasteurisasi adalah salah satu proses yang dilakukan dalam rangka mempertahankan kualitas susu, dengan cara meminimalisir adanya jumlah bakteri khususnya *Staphylococcus aureus* yang terkait dengan penelitian ini. Hal ini juga didukung oleh pernyataan Hassan, dkk (2009) bahwa pasteurisasi tidak mematikan semua mikroorganisme patogen tetapi mengurangi jumlahnya hingga level aman. Pada penelitian sebelumnya juga dinyatakan bahwa *Staphylococcus*

*aureus* dapat mati dengan pemanasan pada suhu 60°C tetapi kandungan lemak dan protein pada susu dapat menyebabkan *Staphylococcus aureus* dapat bertahan saat proses pasteurisasi karena lemak dan protein bersifat dapat melindungi sel bakteri dari pengaruh lingkungan. Selain itu kandungan air, karbohidrat, dan lemak pada bahan dapat meningkatkan ketahanan panas mikroorganisme (Jay, 1986)

Pada penelitian ini susu pasteurisasi komersial diberi perlakuan yaitu kemasan dibuka kemudian disimpan pada suhu 4°C serta dilakukan perhitungan jumlah koloni *Staphylococcus aureus* dari hari ke-0, ke-1, ke-2, ke-3, hingga hari ke-4. Secara berturut-turut pertumbuhan *Staphylococcus aureus* merek X hari ke-0 hingga hari ke-4 adalah 0 cfu/ml,  $1,2 \times 10^2$  cfu/ml,  $5,1 \times 10^2$  cfu/ml,  $6,6 \times 10^2$  cfu/ml,  $8,45 \times 10^2$  cfu/ml. Pada merek Y dari hari ke-0 hingga hari ke-4 secara berturut-turut terjadi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebanyak 0 cfu/ml,  $1 \times 10^1$  cfu/ml,  $1,7 \times 10^2$  cfu/ml,  $1,785 \times 10^3$  cfu/ml,  $3,285 \times 10^3$  cfu/ml sedangkan pada merek Z secara berturut-turut pada hari ke-0 hingga hari ke-4 terjadi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* sebanyak 0 cfu/ml,  $1,7 \times 10^2$  cfu/ml,  $5 \times 10^2$  cfu/ml,  $4,235 \times 10^3$  cfu/ml,  $6,115 \times 10^3$  cfu/ml. Awal penyimpanan pada penelitian ini yaitu hari ke-1 dilakukan kontrol suhu 4°C selain itu juga telah dilakukan uji pewarnaan gram pada bakteri yang tumbuh, hasil pewarnaan gram pada bakteri yang tumbuh menunjukkan warna ungu yang merupakan ciri gram positif sehingga terbukti bahwa bakteri yang tumbuh pada media MSA adalah *Staphylococcus aureus*. Hasil jumlah bakteri menunjukkan bahwa jumlah *Staphylococcus aureus* pada susu pasteurisasi komersial selama penyimpanan dalam hari mengalami peningkatan dan menunjukkan bahwa kualitas produk susu pasteurisasi komersial yang kemasan sudah dibuka akan mengalami perubahan atau lebih tepatnya penurunan kualitas meskipun disimpan pada suhu 4°C yang penurunan kualitas susu pasteurisa-

si komersial ditandai dengan adanya pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian sebelumnya, penyimpanan susu pasteurisasi yang tidak dibuka pada suhu 4°C menunjukkan tidak adanya pertumbuhan *Staphylococcus aureus* hingga 0 cfu/ml (Kartawijaya, 2012) akan tetapi terdapat pernyataan lain bahwa *Staphylococcus aureus* memiliki suhu tumbuh minimum 4°C (Adam and Moss, 1995) dengan demikian bukan berarti tidak akan terjadi pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada susu pasteurisasi komersial yang kemasan sudah dibuka pada penyimpanan suhu 4°C.

Kurva pertumbuhan *Staphylococcus aureus* selama penyimpanan 4 hari hanya menggambarkan fase lag dan fase log (pertumbuhan eksponensial). Menurut Jay *et al* (2005) fase lag adalah fase terjadi peningkatan ukuran sel, hal ini sejalan dengan pernyataan Saputra (2011) fase lag merupakan fase terjadinya perubahan bentuk dan pertumbuhan jumlah individu yang tak secara nyata terlihat karena fase ini dapat juga dinamakan sebagai fase adaptasi (penyesuaian) atau periode penyesuaian untuk penambahan metabolit pada kelompok sel, menuju tingkat yang setaraf dengan sintesis sel maksimum. Ini disebabkan tidak atau belum adanya sumber nutrisi yang cukup untuk makanan mikroba sedang fase logaritmik adalah fase setelah setiap individu mengalami penyesuaian diri dengan lingkungan baru selama fase lag, maka mulailah mengalami perubahan bentuk dan meningkatkan jumlah sel sehingga apabila dilihat pada kurva akan tampak meningkat dengan tajam. Namun peningkatan ini harus diimbangi dengan beberapa faktor, diantaranya adanya kandungan sumber nutrisi sebagai bahan makanan pada mikroba tersebut. Apabila tidak ada kandungan sumber nutrisi maka mikroba tidak akan berkembang biak dan kurva juga tidak akan menunjukkan peningkatan.

Pada semua merek susu pada penelitian ini grafik pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pada masing-masing merek susu pasteurisasi komersial yang kemasan sudah dibuka belum sampai pada fase stationer bahkan fase kematian. Belum sampainya grafik pada fase stationer diduga karena adanya pengaruh faktor intrinsik dan ekstrinsik yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, salah satunya adalah kandungan nutrisi yang sangat mendukung pertumbuhan *Staphylococcus aureus* serta adanya kemungkinan lain seperti pengaruh kondisi suhu yang berubah-ubah karena tidak adanya tempat khusus dengan suhu 4°C untuk menyimpan susu saat di bawa dari tempat penyimpanan ke laboratorium identifikasi bakteri.

Menurut penelitian Kibuuka (2009) diperoleh hasil bahwa pada penyimpanan hari ke-5 terdapat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* yang melebihi batas aman yaitu  $>0$  cfu/ml pada susu pasteurisasi komersial dan terjadi pertumbuhan selama penyimpanan 7 hari, sedangkan pada penelitian ini susu pasteurisasi komersial yang kemasan sudah dibuka mengalami pertumbuhan koloni *Staphylococcus aureus* yang melebihi batas aman sejak hari pertama penyimpanan, sehingga dapat disimpulkan bahwa susu pasteurisasi komersial yang kemasan sudah dibuka pada hari pertama penyimpanan memang sudah tidak aman untuk dikonsumsi karena pada hari pertama *Staphylococcus aureus* telah tumbuh dan melebihi batas aman. Mengenai hal lain seperti dampak negatif dari konsumsi *Staphylococcus aureus* secara tidak sengaja dan melebihi batas aman yaitu  $>10^1$  dinyatakan dapat menyebabkan keracunan yang ditandai dengan mual, muntah, kram perut (Millitois dan Bier, 2003). Hal ini menunjukkan bahwa susu pasteurisasi bila disimpan pada suhu 4°C dalam kemasan tertutup apabila sudah dibuka harus segera dikonsumsi untuk menghindari adanya pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

## 6.2 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini dilakukan sesuai prosedur yang ada tetapi penelitian ini masih memiliki kekurangan yaitu tidak dilakukan kontrol suhu *refrigerator* setiap hari (kontrol suhu *refrigerator* hanya dilakukan pada saat penyimpanan hari pertama), selain itu juga terdapat faktor lain yang mempengaruhi suhu pada bagian dalam kemasan seperti tidak adanya tempat khusus dengan suhu 4°C untuk menyimpan susu saat di bawa dari tempat penyimpanan ke laboratorium identifikasi bakteri. Pada penelitian ini juga terdapat kekurangan lain yaitu tidak ada pengulangan karena keterbatasan waktu dan tenaga serta adanya keterbatasan biaya pembelian alat dan bahan penelitian.



## BAB 7

## KESIMPULAN DAN SARAN

## 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

Susu pasteurisasi komersial merek X, Y, dan Z dalam kemasan yang sudah dibuka selama penyimpanan hari ke-1, ke-2, ke-3, dan ke-4 pada suhu 4°C mengalami peningkatan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* yang melebihi batas aman Standar Nasional Indonesia yaitu  $>10^1$  cfu/ml, untuk merek X berturut-turut sejumlah  $1,2 \times 10^2$  cfu/ml,  $5,1 \times 10^2$  cfu/ml,  $6,6 \times 10^2$  cfu/ml,  $8,45 \times 10^2$  cfu/ml, merek Y berturut-turut sejumlah  $1 \times 10^1$  cfu/ml,  $1,7 \times 10^2$  cfu/ml,  $1,785 \times 10^3$  cfu/ml,  $3,285 \times 10^3$  cfu/ml, dan merek Z berturut-turut sejumlah  $1,7 \times 10^2$  cfu/ml,  $5 \times 10^2$  cfu/ml,  $4,235 \times 10^3$  cfu/ml,  $6,115 \times 10^3$  cfu/ml.

## 7.2 Saran

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat disampaikan adalah:

1. Konsumen susu pasteurisasi tidak dianjurkan mengkonsumsi susu pasteurisasi komersial kemasan yang sudah dibuka lebih dari 24 jam dan sebelum dikonsumsi sempat berada pada suhu ruang meski sebelumnya telah di simpan pada suhu 4°C.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut dengan interval waktu penyimpanan dalam hitungan jam (<24 jam).

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, MR, dan Moss, MO. 1995. *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry. United Kingdom.
- Anonim, 1998a. *Pasca Panen Susu*, (Online), (<http://www.pustaka.litbang.deptan.go.id/agritek/dkij0111.pdf>, diakses 27 Januari 2012).
- Bakteri Koki Gram Positif. (Online) [http:// hicsigwi-ki.asid.net.au/images/5/51/GPC\\_Staph.jpg](http://hicsigwi-ki.asid.net.au/images/5/51/GPC_Staph.jpg)). Diakses 31 Agustus 2012
- Britannica Encyclopedi. 2012. *Ultrahigh Temperature*. (Online) [http:// hicsigwi-ki.asid.net.au/images/5/51/GPC\\_Staph.jpg](http://hicsigwi-ki.asid.net.au/images/5/51/GPC_Staph.jpg)). Diakses 31 Agustus 2012
- Cox, J.M. 2001. *Gram Negatif Aerobic Bacteria in Spoilage of Processed Food: Causes and Diagnosis in Food Microbiology Group* (Eds), AIFST Inc., NSW Branch. Australia.
- Eka Jayasari, Natalie, 2011. *Studi Inaktivasi Escherichia Coli dengan Metode Pasteurisasi Thermal dan Non Thermal pada Susu Sapi Segar*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, FTP. Universitas Brawijaya, Malang
- Fardiaz, S. 1992. *Petunjuk Laboratorium Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. IPB
- Griffiths, M.W. 2000. *Milk and Unfermented Milk Product in The Microbiological Safety and Quality of Food*. In: Lund B.M., Baird Parker T.J., Gould W.W., (Eds). *Aspen Publisher, Inc.*, Gaithersburg. Maryland.
- Hassan NBA, Abdalia MOM, and Nour AAAM. 2009. *Microbiological Quality of Heat Treatment Milk During Storage*. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8 (12):1845-1848
- Idris S. 2003. *Pengantar Teknologi Pengolahan Susu*. 2<sup>nd</sup> Ed. Universitas Brawijaya, Malang (dalam Martiani. 2006. *Kualitas Susu Pasteurisasi Komersial pada Penyimpanan Suhu Dingin Ditinjau Dari Aspek Mikrobiologi*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya, Malang).
- Jay, J.M. 1986. *Modern Food Microbiology Van Nostrand Reinhold Company*. New York.
- Jay, JM. 2000. *Modern food microbiology*. Chapman and Hall. New York (dalam Martiani. 2006. *Kualitas Susu Pasteurisasi Komersial pada Penyimpanan Suhu Dingin Ditinjau Dari Aspek Mikrobiologi*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya, Malang).
- Jay JM, Loessner MJ, and Golden DA. 2005. *Modern Food Microbiology*, 7<sup>th</sup> Edition, Springer, USA
- Kartawijaya, Yongky. 2012. *Pengaruh Waktu dan Suhu Penyimpanan 4°C dan 28°C Terhadap Jumlah Staphylococcus aureus pada Media Air Susu Sapi*

*Pasteurisasi*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang

Kibuuka, Robert. 2009. *Detection of Listeria Monocytogenes in Pasteurized Milk Sold in Supermarket in Bogor City and Its Relationship With Human Health*. Thesis. Universitas Bogor Agrikultur. (Online). <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/5279>. Diakses 27 Januari 2012.

Lukman, D.W., 2004. *Pelatihan Mikrobiologi Dasar Bidang Kesehatan Hewan Peternakan. Analisis Kuantitatif Bakteri Produk Asal hewan*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Mannitol Salt Agar. (Online). [http://www.austinc.edu/microbugz/mannitol\\_salt\\_agar.php](http://www.austinc.edu/microbugz/mannitol_salt_agar.php). Diakses 7 Juni 2012

Martiani. 2006. *Kualitas Susu Pasteurisasi Komersial pada Penyimpanan Suhu Dingin Ditinjau Dari Aspek Mikrobiologi*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya, Malang.

Media Indonesia. 2011. *Kasus Keracunan Susu*. (Online) <http://www.mediaindonesia.com/read/2011/10/28/271820/76/20/Puluhan-Anak-SD-Keracunan-Susu-Gratis-> Diakses 27 Januari 2012

Monday, SR dan RW. Bennet. 2003. *Staphylococcus aureus*. Dalam : Militois, MD dan Bier, JW. *International Handbook of Foodborne Pathogen*. Marcel Dekker, Inc. New York

Mugiyanto, Puji. 2011. *Kurva Pertumbuhan Mikroba* (Online). <http://www.scribd.com/doc/69706860/KURVA-PERTUMBUHAN-MIKROBA>. Diakses 26 Juni 2012.

Murray, C.. 2001. *Gram Negative Rods in Spoilage of Procesed Foods : Causes and Diagnosis*. In: Food Microbiology Group (Eds), *AIFST Inc.*, NSW Branch. Australia.

Murthy, G.K., Kleyn, D.H., Richardson, T. Rocco, R.M.. 1992. *Alkaline Phospate in Standard Methods for The Examination of dairy Product*. 16<sup>th</sup> Ed. In: R.T. Marshall (Ed). *American Public Health Association*. Washington.

Ningrum V. 2005. *Profil Kualitas Mikrobiologis Susu Pasteurisasi Kemasan*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya, Malang. (dalam Martiani. 2006. *Kualitas Susu Pasteurisasi Komersial pada Penyimpanan Suhu Dingin Ditinjau Dari Aspek Mikrobiologi*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya, Malang)

Potter NN., Hotchkiss JH. 1995. *Food Science*, 5<sup>th</sup> Ed. Thomson Publishing. New York.

Purwadi, 2004. *Pengembangan Produksi Susu Pasteurisasi Melalui Proses Pasteurisasi Sistem Kontinyu di Koperasi SAE PUJON Malang*. Laporan Akhir

*Proyek Riset Unggulan Kemitraan*. Kementerian Riset dan Teknologi, Malang

Purwanti. 2012. *Bakteri Gram Positif dan Negatif* (Online), <http://www.anneahira.com/bakteri-gram-negatif.htm>. Diakses 26 Juni 2012

Saputra, Jovi. 2011. *Kurva Pertumbuhan Mikroba* (Online). <http://jovisaputra.wordpress.com/2011/03/26/kurva-pertumbuhan-mikroba/>. Diakses 26 Juni 2012

Shiddieqy, M.I., 2005. *Memetik Manfaat Susu Sapi*, (Online), (<http://1ggplus.wordpress.com/2007/11/05/memetik-manfaat-susu-sapi/>). Diakses 27 Januari 2012).

*Staphylococcus aureus* pada MSA. (Online) <http://lifesci.rutgers.edu/skelly/images/MSA-S.aureus.jpg>. Diakses 5 Mei 2012

Susilorini, Tri Eko dan Manik Eirry Sawitri. 2006. *Produk Olahan Susu Penebar Swadaya*. Jakarta (dalam Martiani. 2006. *Kualitas Susu Pasteurisasi Komersial pada Penyimpanan Suhu Dingin Ditinjau Dari Aspek Mikrobiologi*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya, Malang).

Susu Pasteurisasi Komersial. (Online) [www.indofood.com](http://www.indofood.com). Diakses tanggal 5 Agustus 2011

Supardi I dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Penerbit alumni, Bandung.

Suwito, Widodo. 2010 *Bakteri yang Sering Mencemari Susu : Deteksi, Patogenesis, Epidemiologi, dan Cara Pengendaliannya*. (Online) [pustaka.litbang.deptan.go.id/publikasi/p3293103.pdf](http://pustaka.litbang.deptan.go.id/publikasi/p3293103.pdf). Diakses 30 Agustus 2012.

Varnam A.H., Sutherland J.P., 1994. *Milk and Milk Product: Technology, Chemistry and Microbiology*. Chapman & Hall. London.

Walstra P., Geurts T.J., Noomen, A., Van Boekel M.A.J.S., 1999. *The Dairy Technology. Principle of Milk Properties and Processes*. Marcel Dekker. New York.

Widodo. 2003. *Bioteknologi Industri Susu*. 1<sup>st</sup> Ed. Cetakan I., Lactiera Press, Yogyakarta.

Wira Sakti, Satria, 2008. *Identifikasi Bakteri Patogen pada Telur Mentah di Kota Malang*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya, Malang.

Lampiran 1

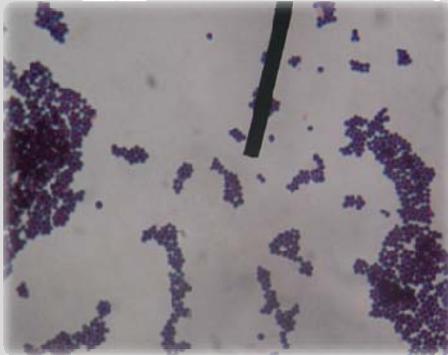


Gambar L1.1 Pipet



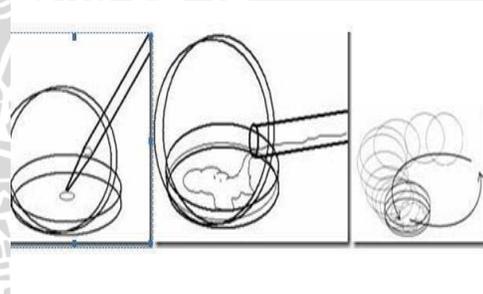
Gambar L1.4 Koloni *Staphylococcus aureus* pada Media MSA

*Staphylococcus aureus* yang tumbuh berbentuk bulat dan tampak mengkilap



Gambar L1.2 Pewarnaan Gram

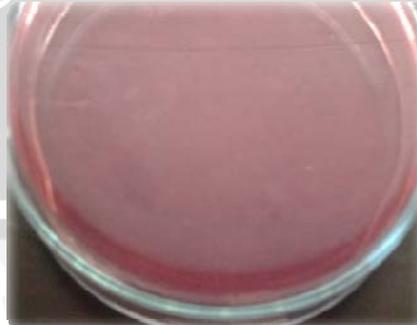
*Staphylococcus aureus* berbentuk kokus, menggerombol, berwarna ungu yang menunjukkan sifat gram positif



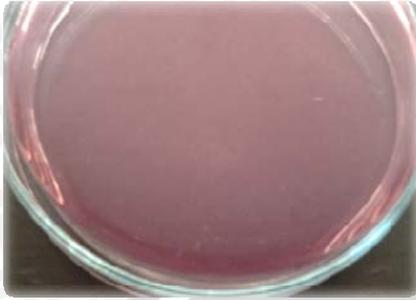
Gambar L1.5 Visualisasi Metode Tuang



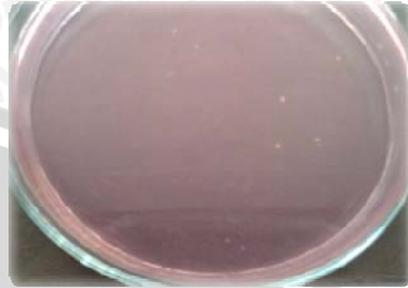
Gambar L1.3 Uji Koagulase



Gambar L1.6 Sampel X hari ke-0



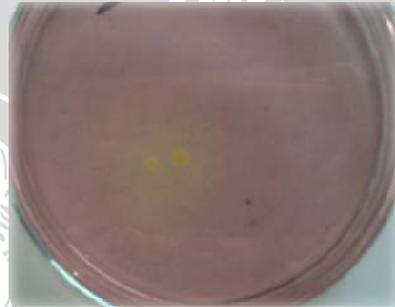
Gambar L1.7 Sampel Y hari ke-0



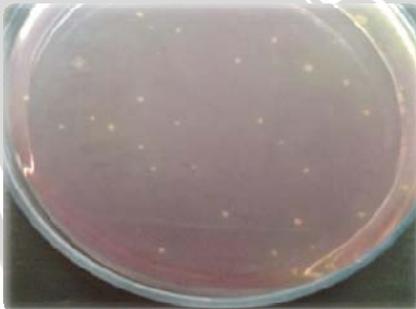
Gambar L2.0 Sampel Y hari ke-2



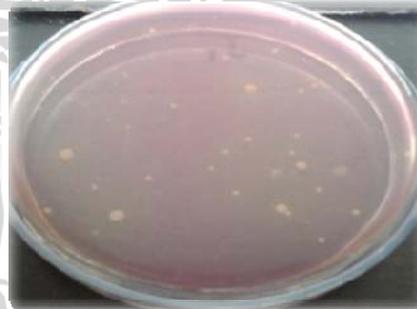
Gambar L1.8 Sampel Z hari ke-0



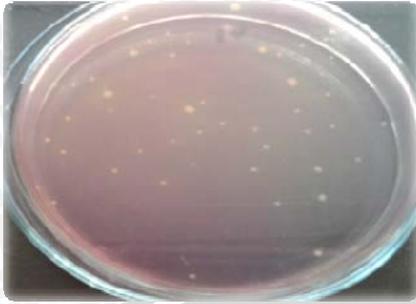
Gambar L2.1 Sampel Z hari ke-2



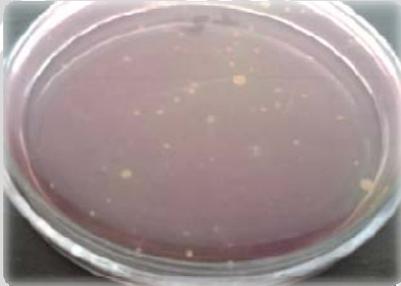
Gambar L1.9 Sampel X hari ke-2



Gambar L 2.2 Sampel X hari ke-4



Gambar L 2.3 Sampel Y hari ke-4



Gambar L2.4 Sampel Z hari ke-4



## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Auliya Rahmi

NIM : 0810730021

Program Studi : Program Studi Ilmu Gizi

Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya aku sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, Juli 2012

Yang membuat pernyataan

Auliya Rahmi  
NIM 0810730021