ANALISA PERTUMBUHAN BAKTERI *Eschericia coli* DAN PENETAPAN ANGKA KUMAN TOTAL DALAM SEDIAAN SUSU PASTEURISASI SELAMA WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA

SKRIPSI

Oleh :

KHRISMA NIRMALASARI

No. Mhs : 99613182

NIRM : 990051012807120346

JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA

OKTOBER
2003

ANALISA PERTUMBUHAN BAKTERI *Eschericia coli* DAN PENETAPAN ANGKA KUMAN TOTAL DALAM SEDIAAN SUSU PASTEURISASI SELAMA WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si) Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia Jogjakarta

Oleh :

KHRISMA NIRMALASARI
99613182

JURUSAN FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

JOGJAKARTA

OKTOBER

2003

LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING

JUDUL

ANALISA PERTUMBUHAN BAKTERI *Eschericia coli* DAN PENETAPAN ANGKA KUMAN TOTAL DALAM SEDIAAN SUSU PASTEURISASI SELAMA WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA

Oleh :

KHRISMA NIRMALASARI
99613182

Jogjakarta, 1 Oktober 2003

Pembimbing I	Pembimbing II
Dra. Suparmi, M.Si, Apt.	**Saepuddin, S.Si, Apt.**

LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI

JUDUL

ANALISA PERTUMBUHAN BAKTERI *Eschericia coli* DAN PENETAPAN ANGKA KUMAN TOTAL DALAM SEDIAAN SUSU PASTEURISASI SELAMA WAKTU PENYIMPANAN YANG BERBEDA

Oleh :

Khrisma Nirmalasari

99613182

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 24 Oktober 2003

Penguji

1. **Dra. Suparmi, M.Si, Apt.** .....
2. **Saepuddin, S.Si,Apt.** .....
3. **Indah Purwantini, M.Si, Apt.** .....

Mengetahui

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia

(Jaka Nugraha,M.Si.)

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam Daftar Pustaka.

Jogjakarta, 31 Oktober 2003

Penulis

Khrisma Nirmalasari

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

MOTO

"Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, maka apabila kamu telah selesai (dari suatu urusan) kerjakanlah dengan sungguh-sungguh urusan yang lain. Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap."

(QS Al Insyirah : 6-8)

"Sesungguhnya sholatku, ibadahku, (kegiatan) hidupku dan matiku semuanya bagi Allah, Rabb semesta alam."

(QS. Al An'am : 162)

PERSEMBAHAN

Dengan segenap kerendahan dan ketulusan hati,

Kupersembahkan hasil jerih payah dan pikiranku kepada :

Ayah dan ibu tercinta, terimakasih atas do'a, bimbingan, dorongan dan kasih sayangmu

Kakak–kakakku : mas Sigit, mba Nunu' n mas Tito yang selalu menyayangiku

Hanif yang kusayangi, hanya canda dan tawamu yang bisa mengobati kebosananku

Mas Miftah, terimakasih atas do'a, saran, dan semangatnya

Mas Indra, thank's telah mengisi kekosongan hatiku

Teman seperjuanganku Ika, terimakasih atas kerjasamanya selama ini

Nyunyun, Lisa, Sophi, Diah, Shinta, Nancy, Titis, Elus, Ari dan anak-anak WSP lainnya, thank's atas bantuan dan semangat yang kalian berikan

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum, wr. wb.

Syukur alhamdulillah penulis pajatkan ke hadirat Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah–Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir dengan judul **"Analisa Pertumbuhan Bakteri *Eschericia coli* dan Penetapan Angka Kuman Total dalam Sediaan Susu Pasteurisasi Selama Waktu Penyimpanan yang Berbeda"** sebagai kewajiban bagi setiap mahasiswa yang akan mengakhiri studinya di Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih atas doa, bantuan, dorongan dan bimbingan dari semua pihak, sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik. Untuk itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dra. Suparmi, M.Si, Apt., selaku Dosen Pembimbing I yang telah berkenan membimbing dan memberikan nasehat saat penelitian dan penyusunan skripsi.
2. Bapak Saepuddin, S.Si, Apt., selaku Dosen Pembimbing II yang telah berkenan membimbing dan memberikan nasehat saat penelitian dan penyusunan skripsi.
3. Ibu Indah Purwantini, M.Si, Apt., selaku Dosen Penguji pada skripsi ini.
4. Bapak Jaka Nugraha, M.Si, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Jogjakarta.
5. Ibu Farida Hayati, M.Si, Apt., selaku Ketua Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Jogjakarta.
6. Bapak dan Ibu dosen serta staf karyawan di lingkungan Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia, atas segala ilmu dan pendampingan yang diberikan kepada penulis.

7. Ibu Candra, Ibu Wati, Mbak Eni dan Bapak Suyono serta segenap karyawan Politeknik Kesehatan (Poltekkes) Jurusan Analis Kesehatan Jogjakarta yang telah membantu dan membimbing penulis selama penelitian disana.
8. Ayah dan Ibu yang telah memberikan do'a dan restu serta kasih sayang yang tulus yang takkan ternilai harganya.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesikan tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Yang Maha Kuasa selalu memberkati dan membalas bantuan yang telah diberikan kepada penulis.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan pengalaman dari penulis. Oleh karena itu sangat diharapkan kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi almamater dan masyarakat.

Wassalamu'alaikum, wr. wb.

Jogjakarta, 30 September 2003

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL i
LEMBAR PENGESAHAN PEMBIMBING ii
LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI iii
HALAMAN PERNYATAAN iv
HALAMAN PERSEMBAHAN v
KATA PENGANTAR vi
DAFTAR ISI viii
DAFTAR TABEL x
DAFTAR GAMBAR xi
DAFTAR LAMPIRAN xii
INTISARI xiii
ABSTRACT xiv
BAB I PENDAHULUAN 1
A. Latar Belakang Masalah 1
B. Perumusan Masalah 3
C. Tujuan Penelitian 3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4
A. Tinjauan Pustaka 4
1. Pengertian Air Susu 4
2. Susu Pasteurisasi 7
3. Mikrobiologi Air Susu 8
4. Bakteri Patogen 12
5. Pengujian Mutu Mikrobiologi air Susu 18
6. Media Pertumbuhan Bakteri 19
7. Isolasi dan Identifikasi Bakteri 21
8. Perhitungan Jumlah Bakteri 23
9. Uji Reduktase 24
10. Keasaman dan pH Susu 25

B. Landasan Teori 26
C. Hipotesis 28
BAB III METODE PENELITIAN 29
A. Alat dan Bahan 29
B. Jalannya Penelitian 31
1. Pengambilan sampel 31
2. Perlakuan sampel 31
3. Pemeriksaan pH 31
4. Uji reduktase 31
5. Uji kadar asam 32
6. Perhitungan angka kuman total 33
7. Perhitungan bakteri *E. coli* dengan metode MPN 33
8. Isolasi bakteri bentuk batang Gram negatif 34
9. Pengecatan gram 35
10. Identifikasi bakteri 36
C. Analisis Data 41
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 42
A. Perhitungan Angka Kuman Total 42
B. Hasil Perhitungan MPN untuk *E. coli* 46
C. Uji Reduktase 49
D. Uji Sifat Kimiawi Susu 50
E. Isolasi dan identifikasi Bakteri *P. aeruginosa* 52
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN 56
A. Kesimpulan 56
B. Saran 57
DAFTAR PUSTAKA
LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

I. Klasifikasi Susu Berdasarkan Uji Reduktase 25

II. Daftar Uji Biokimiawi untuk Bakteri *E. coli* 37

III. Daftar Uji Biokimiawi untuk Bakteri *P. aeruginosa*..... 38

IV. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni 44

V. Hasil Perhitungan Angka Kuman Total 45

VI. Hasil Perhitungan Rata-rata Angka Kuman Total 45

VII. Kualitas Air Berdasarkan Pertumbuhan Bakteri *E. coli* per 100 ml 48

VIII. Hasil Uji Perkiraan dan Penegasan Bakteri *E. coli* 48

IX. Rata-rata Perhitungan MPN *E. coli* 49

X. Hasil Pengamatan Angka Reduktase 50

XI. Hasil Pemeriksaan pH 51

XII. Hasil Pemeriksaan Kadar Asam Susu 52

XIII. Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa* 55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Skema Perhitungan Angka Kuman Total 38
Gambar 2. Skema Angka Kuman MPN *E. coli* 39
Gambar 3. Skema Isolasi dan Identifikasi Bakteri 40
Gambar 4. Grafik Perhitungan Rata-rata Angka Kuman Total 46

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data dan analisis korelasi bivariate

Lampiran 2. Komposisi nutrisi yang terdapat pada air susu pasteurisasi.

Lampiran 3. Keputusan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan No : 03726 / B / SK / VII / 89

Lampiran 4. Pembuatan dan komposisi media yang digunakan

Lampiran 5. Uji-uji kimia pada identifikasi bakteri

Lampiran 6. Gambar-gambar identifikasi bakteri

Lampiran 7. Surat Keterangan Penelitian di Poltekkes Jurusan Analis Kesehatan Jogjakarta.

PERPUSTAKAAN FMIPA

INTISARI

Telah dilakukan penelitian tentang analisa pertumbuhan bakteri *Eschericia coli* dan bakteri patogen lain dalam sediaan susu pasteurisasi yang disimpan pada jangka waktu yang berbeda, dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) *E.coli* dan perhitungan angka kuman dengan metode *Plate Count* cara *Pour Plate.*

Penelitian dilakukan dengan menggunakan sampel susu pasteurisasi yang diperoleh dari salah satu distributor di Jalan Kaliurang Km 7 Jogjakarta. Sampel dikelompokkan menjadi 4 kelompok dan masing-masing mendapatkan perlakuan waktu penyimpanan yang berbeda yaitu pada 2, 4, dan 6 hari pada suhu 5°C. Kemudian dilakukan pemeriksaan ada tidaknya bakteri *Eschericia coli* dan bakteri patogen lain terhadap masing–masing sampel yang telah disimpan pada jangka waktu yang berbeda tersebut. Penelitian ini dilakukan dengan tahapan isolasi, identifikasi serta perhitungan jumlah kuman menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) *E. coli* dan metode *Plate Count* cara *Pour Plate*, serta dilakukan beberapa uji kimiawi yaitu uji reduktase, pemeriksaan pH dan uji kadar asam susu.

Dari penelitian yang dilakukan diketahui bahwa sampel yang diperiksa mengandung bakteri *Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa.* Hasil pemeriksaan angka kuman menunjukkan bahwa sampai pada hari keempat penyimpanan susu tersebut masih dalam batas normal, sedangkan pada hari keenam susu tersebut sudah tidak memenuhi syarat jumlah kuman dalam susu. Hasil uji reduktase, pemeriksaan pH dan uji kadar asam menunjukkan bahwa semakin lama waktu penyimpanan maka kualitas susu semakin menurun.

ANALYSIS OF *Eschericia coli* GROWTH AND TOTAL GERM NUMBER IN PASTEURIZED MILK FOR DIFFERENT STORAGING DURATION

ABSTRAC

The research about analysis of *Eschericia coli* growth and total germ number in pasteurization milk for different storaging duration was done. The research was carried out using *Most Probable Number* (MPN) E. coli and standard *Plate Count* in the way *Pour Plate*.

The samples are pasteurization milk that was distributed from sole agent in Jogjakarta, Kaliurang avenue km. 7. Sample was grouped to four group and each group getting different depository time treatment at 2, 4, and 6 day at temperature 5°C. Samples were analyzed by an inspection there is exist or not of bacterium *Eschericia coli* and the other bacterium pathogen to each sample. This research involved the insulation step, identification, the counting number of bacteria with MPN E. coli method and with *Plate Count* in the way *Pour Plate*, and also some chemical test that is reduction test, pH analyzed and the acid contains of milk test.

There was known that the samples were checked contain the bacterium *Eschericia coli* and *Pseudomonas aeruginosa.* The result of counting number of bacteria show that until the fourth day storage of milk is in normal limited, whereas on sixth day the milk was not already fullfil condition sum up the germ in the milk. The result of reduction test, pH analyzed and the acid contens of milk test show that the longer depository time will decrease of milk quality.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Susu merupakan bahan pangan yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Hal ini sudah diketahui pula oleh orang–orang yang hidup jauh sebelum tahun masehi dikenal, bahwasanya susu dapat mendorong pertumbuhan manusia dengan sangat baik sejak bayi sampai dewasa. Dengan perkembangan teknologi yang semakin maju, ada usaha–usaha mengolah susu segar menjadi bentuk olahan. Ini dimaksudkan agar konsumsi susu dapat menyebar ke segala lapisan masyarakat, jumlah yang dikonsumsi masyarakat juga semakin banyak, penganekaragaman hasil olahan sesuai dengan selera konsumen, dan mencegah adanya kerusakan susu lebih banyak. Namun perlu disadari bahwa untuk mengolah susu segar menjadi produk olahan yang baik diperlukan mutu susu yang baik. Demikian pula jika susu segar disediakan dalam bentuk segar atau terpasteurisasi, maka harus mempunyai mutu yang dapat diandalkan.

Susu pasteurisasi adalah susu segar yang telah mengalami pemanasan pada suhu dibawah 100°C. Standar pasteurisasi menggunakan suhu 62°C selama 30 menit atau suhu 71°C selama 15 detik. Pemanasan tersebut bertujuan mematikan bakteri–bakteri patogen yang mungkin ada dan sebagian bakteri non patogen, sehingga susu pasteurisasi dalam jangka waktu tertentu aman untuk diminum tanpa harus dipanaskan lagi. Pada penyimpanan dingin ± 4°C, susu pasteurisasi tidak rusak dalam waktu kurang lebih 7 hari (Hadiwiyoto, 1994).

Sekalipun telah mengalami pasteurisasi, namun air susu yang 100% bebas mikroorganisme patogen itu jarang atau sama sekali tidak ada. Bakteri yang selalu ada dalam susu yaitu bakteri penghasil asam susu dari famili Lactobacilaceae, famili Streptococcaceae, famili Enterobacteriaceae yaitu bakteri *Eschericia coli*, famili Pseudomonadaceae yaitu bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan dari marga-marga Micrococcus, Staphylococcus dan Bacillus. Spesies ini cepat sekali berkembang biak dan mudah menguraikan karbohidrat (laktosa) menjadi asam laktat yang menyebabkan susu menjadi rusak dengan rasa asam dan apabila dikonsumsi akan timbul keluhan berupa sakit perut, diare maupun kejang perut.

Susu merupakan media pertumbuhan yang baik bagi mikrobia karena susu mengandung protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral serta mempunyai pH sekitar 6,8. Untuk mengurangi kemungkinan air susu terkontaminasi dengan bakteri jenis lain, maka harus diperhatikan tempat, suhu dan waktu penyimpanan yang baik supaya terhindar dari kontaminasi. Meskipun susu telah mengalami proses pasteurisasi, apabila cara penyimpanan dan waktu penggunaannya tidak benar maka akan terjadi pertumbuhan bakteri yang aktivitasnya akan merusak kualitas susu. Selain cara dan waktu penyimpanan yang tidak benar, proses pasteurisasi yang kurang tepat juga mengakibatkan bakteri yang terdapat di dalam air susu tidak seluruhnya mati dan masih tahan terhadap pemanasan yang rendah.

Produk susu pasteurisasi yang dikonsumsi masyarakat diharapkan memenuhi standar mutu yang telah ditetapkan termasuk mengenai kandungan mikroorganismenya. Untuk menunjang hal tersebut perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui jumlah angka kuman total, MPN *E. coli*, angka reduktase, kadar

asam laktat dan keberadaan bakteri *E. coli* dan bakteri–bakteri lain diantaranya *P. aeruginosa* pada susu pasteurisasi setelah mengalami penyimpanan. Hasil penelitian tersebut diharapkan dapat memberikan keterangan kepada masyarakat mengenai waktu penyimpanan yang efektif untuk susu yang telah dipasteurisasi.

B. Perumusan Masalah

Sebagai bagian dari upaya untuk mengetahui tingkat keamanan dari sediaan susu pasteurisasi yang dikonsumsi masyarakat, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu :

Adakah hubungan antara lamanya waktu penyimpanan dengan pertumbuhan bakteri dalam sediaan susu pasteurisasi ?

Karena berbagai keterbatasan, penelitian ini dibatasi dengan hanya :

1. Menggunakan sampel susu pasteurisasi yang diperoleh dari distributor yang berada di Jalan Kaliurang Km 7 Jogjakarta.
2. Menggunakan suhu penyimpanan sebesar 5°C.
3. Bakteri yang diuji hanya bakteri *E. coli* dan *P. aeruginosa.*

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu penyimpanan terhadap pertumbuhan bakteri dalam susu pasteurisasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Pengertian Air Susu.

Pengertian atau batasan mengenai kata "susu" adalah cairan berwarna putih yang merupakan hasil pemerahan sapi–sapi atau hewan menyusui lainnya yang susunya dapat dimakan atau digunakan sebagai bahan makanan, yang sehat secara kontinyu dan sekaligus, serta padanya tidak dikurangi komponen-komponennya atau ditambah bahan–bahan lain (Hadiwiyoto, 1994).

Air susu juga dapat didefinisikan sebagai air susu perahan, yaitu air susu sapi yang diperoleh dari sapi yang sehat pada waktu laktasi (15 hari sebelum dan 15 hari sesudah beranak) dengan ketentuan susu sudah tidak bersifat kolostrum (susu sapi yang baru melahirkan) yang diperoleh dengan cara pemerahan yang teratur dan sempurna, tidak terputus–putus, tanpa dibubuhi, dicampuri atau dikurangi apapun (Sindoeredjo, 1960).

Menurut surat keputusan Direktorat Jendral Peternakan No.17/Kpts/DJP/Deptan/1983 telah diseragamkan tentang pengertian dan cara menyebut air susu sapi dan olahannya yaitu :

a. Susu adalah susu ternak perah sapi, kerbau, kambing, domba, atau kuda yang meliputi susu murni, susu segar, susu pasteurisasi, susu sterilisasi, dan susu *Ultra Heat Treated* (UHT);

b. Susu murni cairan yang berasal dari ambing (tetek) ternak perah yang sehat dan bersih, yang diperoleh dengan cara pemerahan yang baik, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun, belum mendapatkan perlakuan apapun, tidak mengandung residu, air yang ditambahkan, bahkan tambahan makanan yang diperbolehkan, atau bahan makanan lainnya;

c. Susu segar adalah susu murni yang tidak mendapat perlakuan pemanasan, irradiasi atau perlakuan fisik lainnya kecuali proses pendinginan;

d. Susu pasteurisasi adalah susu segar, susu rekonstitusi atau susu rekombinasi yang telah mengalami proses pemanasan pada temperatur 63°C–66°C minimum selama 30 menit atau pada pemanasan 72°C minimum selama 15 detik, kemudian segera didinginkan sampai 10°C, selanjutnya diperlakukan secara aseptis dan disimpan pada suhu maksimum 4,4 °C;

e. Susu sterilisasi adalah susu segar, susu rekonstitusi atau susu rekombinasi yang telah mengalami proses pemanasan pada temperatur minimum 100°C sedikitnya selama 20 menit dan selanjutnya diperlakukan secara aseptik selama periode yang diperlukan;

f. Susu *Ultra Heat Treated* (UHT) adalah susu segar, susu rekonstitusi atau susu rekombinasi yang telah mengalami proses pemanasan pada temperatur minimum 133°C selama minimum 1 detik kemudian segera didinginkan sampai pada suhu kamar dan selanjutnya diperlakukan secara aseptik;

g. Susu rekonstitusi adalah susu yang diperoleh dari penyatuan kembali bagian-bagian daripada susu yang sudah dipisahkan;

h. Susu rekombinasi adalah susu yang diperoleh dari kombinasi bahan baku susu segar dengan rekonstitusi.

Adapun nutrien dan sifat–sifat fisikawi dan kimiawi susu yang perlu diketahui adalah sebagai berikut :

a. Nutrien yang terkandung dalam susu yang berfungsi untuk tenaga, pertumbuhan dan memperbaiki jaringan yang rusak dalam tubuh meliputi air, karbohidrat, lemak, protein, mineral dan vitamin.

b. Sifat–sifat fisikawi susu meliputi warna, bau dan rasa, bobot jenis, titik didih, titik beku, dan kekentalannya. Sedang sifat kimiawi susu adalah pH dan kadar asam susu (Hadiwiyoto,1994)

Menurut Adnan, (1984), komposisi utama dari susu adalah :

a. Air 87,0 %
b. Lemak 5,9 %
c. Laktosa 4,9 %
d. Protein 3,5 %
e. Abu 0,7 %

Air susu merupakan medium yang sangat baik bagi pertumbuhan banyak jenis bakteri, karena mengandung nutrien yang dapat digunakan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan bakteri tersebut. Komplek nutrien dalam air susu merupakan media yang memungkinkan pertumbuhan bakteri berlangsung cepat, sehingga pengaruh terbesar yaitu terjadinya perubahan kualitas air susu.

Berbagai upaya telah dilakukan oleh peternak agar air susu mereka tidak rusak kualitasnya yaitu antara lain dengan melakukan pasteurisasi.

2. Susu Pasteurisasi.

Susu pasteurisasi adalah susu segar yang telah mengalami proses pemanasan pada suhu di bawah 100°C. Standar pasteurisasi menggunakan suhu 62°C selama 30 menit atau suhu 71°C selama 15 detik. Pemanasan tersebut bertujuan mematikan bakteri-bakteri patogen, dan sebagian mikroorganisme yang ada sehingga tidak merubah cita rasa maupun komposisi air susu, dan dalam jangka waktu tertentu aman untuk diminum tanpa harus dipanaskan lagi. Pada penyimpanan dingin kurang lebih 4°C susu pasteurisasi tidak rusak dalam waktu kurang lebih 7 hari (Hadiwiyoto,1994)

Berbeda dengan proses sterilisasi yang praktis dapat mematikan semua mikroorganisme, pasteurisasi hanya mematikan sekitar 95 sampai 99 % bakteri yang ada.

Pemanasan dalam proses pasteurisasi dapat dilakukan dengan uap air, air panas, panas kering, atau aliran listrik. Bahan pangan yang dipanaskan kemudian segera didinginkan, dengan maksud untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang masih hidup.

Proses pasteurisasi digunakan apabila :

a. Komoditi tidak tahan terhadap panas tinggi.
b. Dimaksudkan untuk membunuh bakteri patogen.
c. Mikrobia pembusuk tidak tahan panas.

d. Cara pengawetan lain akan dilakukan, misalnya dengan penambahan bahan pengawet.

e. Mikrobia saingan perlu dibunuh, agar mikrobia yang dihendaki dapat tumbuh dengan baik setelah penambahan larutan atau starter.

Menurut Dwijoseputro (1981), sebagai pedoman yang digunakan untuk menentukan baik buruknya air susu yang telah dipasteurisasi adalah jika air susu yang telah dipasteurisasi sebelum diedarkan kepada pelanggan masih mengandung lebih daripada 20.000–30.000 mikroorganisme per mililiter, dan untuk angka kuman totalnya lebih dari 10^5, maka air susu itu dipandang kurang baik. Air susu tersebut juga terhitung kurang baik jika terdapat lebih daripada 10 bakteri kolon per mililiternya. Selain itu untuk mengetahui apakah proses pasteurisasi telah dikerjakan dengan benar atau tidak, dapat dilakukan pengujian lain yaitu menggunakan uji reduktase dan dilihat kadar asamnya.

3. Mikrobiologi Air Susu.

Air susu yang mempunyai pH sekitar 6,8, disamping merupakan makanan yang sangat baik bagi manusia, juga merupakan medium pertumbuhan yang sangat baik bagi mikroorganisme. Bakteri non–patogen dan patogen selalu terdapat dalam air susu bahkan bila kondisi saniter yang paling ketat berlangsung. Air susu merupakan sarana potensial bagi penyebaran mikroorganisme patogen, dimana kontaminasi dengan mikroorganisme patogen ini mungkin berasal dari sapi yang terinfeksi atau pekerja susu yang terinfeksi, yang mungkin sebenarnya tidak sakit.

Dalam tubuh sapi betina yang sehat, air susu adalah steril sampai air susu ini mencapai saluran air susu pada susu sapi. Apabila seekor sapi sakit, saluran air susu ini mengandung bakteri, sehingga air susu yang keluar selalu mengandung mikroorganisme. Akan tetapi, hal ini bukan merupakan sumber utama bakteri dalam air susu. Kebanyakan bakteri berasal dari ember air susu, debu kandang sapi, pekerja dan sumber–sumber yang sejenis. Personalia perusahaan susu yang bebas penyakit dan penggunaan alat kebersihan membantu mengurangi jumlah kontaminan bakteri dari sumber luar, walaupun ada semua usaha pencegahan, mikroorganisme non–patogen tertentu selalu terdapat dalam air susu.

Dalam susu sapi segar sudah terdapat bakteri non patogen sebagai flora normal susu, disamping itu juga terdapat bakteri patogen yang kehadirannya tidak dikehendaki. Bakteri lain yang biasanya terdapat dalam susu mentah (tidak dipasteurisasi) meliputi anggota marga–marga Micrococcus, Pseudomonas, Staphylococcus dan Bacillus. Disamping itu bakteri *E. coli* sering dijumpai, tetapi organisme ini sepenuhnya tidak dikehendaki, dan seberapa jauh kehadirannya adalah bersangkutan langsung dengan kondisi kebersihan produk air susu (Volk & Wheeler, 1989).

Menurut Pelczar dan Chan (1988), mikroorganisme yang terdapat dalam susu dapat dibagi berdasarkan ciri-ciri utama yaitu ciri biokimiawi, ciri suhu, dan patogenisitas. Ciri biokimiawi mikroorganisme yang cukup penting yaitu kemampuan melakukan reaksi kimia yang dapat mengubah rasa asam yang khas dalam susu, perubahan ini terutama disebabkan oleh bakteri–bakteri penghasil asam. Perubahan utama yang terjadi ialah fermentasi laktosa menjadi asam laktat.

Tipe perubahan ini kadang–kadang disebut sebagai fermentasi normal. Organisme lain dapat menyebabkan perubahan yang menghasilkan produk–produk akhir yang tidak enak dimakan.

Ciri–ciri suhu untuk hidup mikroorganisme dibagi berdasarkan suhu untuk pertumbuhan dan ketahanannya terhadap panas. Pada suhu rendah digunakan untuk mencegah atau menghambat pertumbuhan mikroba yang merusak susu, dan pada suhu tinggi digunakan untuk mengurangi populasi mikroba, memusnahkan patogen dan memperbaiki mutu penyimpanan susu. Berdasarkan pada persyaratan suhu, tipe bakteri yang dijumpai dalam susu ialah bakteri yang tahan terhadap suhu pasteurisasi, golongan bakteri *thermodurik*, golongan bakteri *thermofilik*, dan golongan bakteri *psikrofilik*.

a. Bakteri yang tahan terhadap suhu pasteurisasi.

   Bakteri yang tahan terhadap pasteurisasi dapat digolongkan menjadi golongan bakteri pembentuk asam, pembentuk alkali yang mampu mengadakan peptonisasi dan yang inert. Bila kandungan bakteri dari air susu meningkat, setelah proses pasteurisasi proporsi yang tertinggi ialah golongan bakteri pembentuk asam. Golongan bakteri yang mampu mengadakan peptonisasi jumlahnya kecil setelah pasteurisasi, dan menyebabkan susu mudah menjadi asam bila disimpan beberapa waktu.

b. Golongan bakteri *thermodurik*.

   Golongan bakteri ini dianggap sebagai kelompok bakteri yang tidak mati oleh pasteurisasi, tetapi tidak tumbuh pada suhu pasteurisasi. Kelompok mikroorganisme ini sangat menyulitkan. Mereka dapat mencemari

peralatan persusuan sehingga sejumlah susu mentah berikutnya yang diolah dengan menggunakan peralatan yang sama akan sangat tercemar.

Contoh bakteri : *Lactobacillus, Clostridium*, dan *Corynebacterium.*

c. Golongan bakteri *thermofilik.*

Golongan bakteri ini tumbuh pada suhu yang tinggi diatas suhu pasteurisasi yaitu pada suhu 65°C. Bakteri ini menyebabkan perubahan rasa dan bau, menaikkan keasaman dan menyebabkan penggumpalan air susu. Contoh bakteri : *Bacillus stearothermophilus.*

d. Golongan bakteri *psikrofilik.*

Bakteri golongan ini dapat tumbuh cepat pada suhu sedikit di atas suhu beku (1,7°C-10°C). Susu yang telah dipasteurisasi dan disimpan dalam lemari es dapat bertahan satu minggu atau lebih, namun lama kelamaan terjadi juga perusakan susu oleh mikroorganisme yang ditandai dengan adanya perubahan rasa dan bau yang ditimbulkan oleh menumpuknya produk–produk metabolik bakteri psikrofilik.

Contoh bakteri : *Pseudomonas, Flavobacterium, Alcaligenes,* dan *Achromobacter.*

Sedangkan untuk ciri–ciri patogenisitas, mikroorganisme patogenik yang terdapat dalam air susu dapat dilihat dari beberapa sumber dan dapat dipindah sebarkan melalui rute sebagai berikut :

a. Mikroorganisme patogen dari sapi yang terinfeksi akan mencemari susu, sehingga jika susu dikonsumsi, maka manusia yang mengkonsumsi akan terinfeksi oleh bakteri yang terdapat dalam susu tersebut.

Contohnya ialah penyebab tuberculosis, brusellosis, dan mastitis.

b. Mikroorganisme patogen dari manusia (terinfeksi atau pembawa) yang mengolah susu akan mencemari air susu, sehingga manusia yang mengkonsumsi susu tersebut akan menjadi terinfeksi oleh bakteri patogen tersebut.

Contohnya ialah penyebab demam tifoid, difteri, dan disentri.

Adanya mikroorganisme dalam air susu dapat mengakibatkan :

a. Perubahan bau, rasa, dan warna yang tidak dikehendaki.
b. Penurunan berat dan volume.
c. Perubahan nilai gizi.
d. Perubahan bentuk dan susunan senyawa.
e. Timbulnya toksin atau senyawa racun yang membahayakan.

4. Bakteri Patogen.

Bakteri patogen adalah bakteri yang dapat menyebabkan penyakit. Ciri-ciri bakteri patogen yaitu mempunyai kemampuan untuk menularkan penyakit, menginvasi sel inang dan jaringan, dapat menghindar dari sistim kekebalan sel inang dan dapat meracuni sel inang. Dalam susu sapi segar sudah terdapat bakteri non patogen sebagai flora normal susu, disamping itu juga terdapat bakteri patogen yang kehadirannya tidak dikehendaki.

Bakteri-bakteri yang sering didapatkan pada susu yang diperah secara aseptik antara lain *Micrococcus cascolitycus*, *Micrococcus frendenreichi* dan *Streptococcus liquefaciens*. Beberapa bakteri hasil cemaran dari lingkungan antara lain *Streptococcus lactis*, Pseudomonas, Bacillus, Aerobacter dan Eschericia sp.

Bakteri-bakteri tersebut merupakan bakteri perusak susu seperti bakteri *Streptococcus lactis* akan mengakibatkan susu menjadi asam karena memproduksi asam laktat dan juga asam propionat. Bakteri-bakteri Coliform dan beberapa jenis Clostridia dapat memfermentasi susu dengan menghasilkan gas sehingga susu tampak berbuih. Mikrococcus, Alcaligenes, Lactobacillus, Streptococcus, Eschericia, Aerobacter dapat mengakibatkan susu berlendir. Pseudomonas sp dapat mengakibatkan susu berasa dan berbau seperti asam butirat, sedangkan bakteri Coliform dapat mengakibatkan rasa susu tidak murni lagi (Trihendrokesowo, 1989).

Jadi dapat dikatakan bahwa walaupun air susu itu steril dalam sapi sehat, air susu ini memperoleh flora organisme non patogen maupun patogen yang khas segera setelah meninggalkan sapi. Peran sanitasi pada produk susu ialah menjamin agar mikroorganisme patogen yang memyebabkan penyakit tidak sampai masuk ke dalam air susu untuk menyebarkan penyakit kepada konsumen.

a. Bakteri Eschericia coli.

Sistimatika bakteri *Eschericia* coli adalah sebagai berikut :

Divisio : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Familia : Eubacteriaceae

Sub Familia : Eubacteriaceae

Genus : Eschericia

Species : *Eschericia coli*

(Salle, 1961)

Bakteri *E. coli* termasuk dalam famili Enterobacteriaceae dan bersifat anaerobik fakultatif. Morfologi *E. coli* adalah : merupakan suatu bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek (0,5 x 1 – 3 μ), pada biakan muda berbentuk kokobasil, tidak berspora, bergerak aktif dengan flagella peritrik, pada strain tertentu membentuk selubung. *E. coli* dibedakan atas sifat serologinya berdasarkan antigen O (somatik) yang bersifat tahan panas, antigen H (flagella) yang tidak tahan panas (termolabil), rusak pada suhu 100°C, dan antigen K (kapsul).

Sifat biakan *E.coli* : bersifat aerob dan anaerobik fakultatif, tumbuh pada media sederhana pada suhu ± 37,5°C dan pada pH 7,2. Pada media cair tumbuh dengan kekeruhan yang merata dan pada permukaannya terdapat selaput, sedangkan pada media padat (*Mac Conkey agar*) koloninya berwarna merah karena memecah laktosa, berbentuk bulat, licin, tepinya rata. *E. coli* membentuk koloni (S)mooth, (M)ucoid dan (R)ough. Koloni S dan M bersifat patogen, koloni S paling patogen.

Reaksi biokimiawinya : *E. coli* memecah glukosa, laktosa, manitol, maltosa, fruktosa, arabinosa, galaktosa, xylosa, rhamnosa dan sukrosa menjadi asam dan gas. Pada TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) : lerengnya asam, dasarnya asam, gas (+), dan H_2S (-). Menghasilkan reaksi indol (+), dan motility (+).

Resistensi : *E. coli* mati pada pemanasan suhu 60°C selama 30 menit, tetapi ada juga yang resisten. Pada suhu kamar dapat tahan sampai satu minggu, beberapa strain dapat bertahan dalam lemari es selama 6 bulan. *E. coli* peka terhadap desinfektan.

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

E. coli dapat membentuk endotoksin, katalase, fibrinolisin, vitamin B 12 dan vitamin K. Selain itu *E. coli* juga membentuk colicin yaitu zat bakteriosin yang menyerupai antibiotik bersifat bakterisid terhadap kuman Gram negatif (pembentukan colicin ini diatur oleh plasmid, pembentukannya diikuti oleh kematian dan lisis sel), strain yang membentuknya resisten terhadap colicin.

E. coli banyak ditemukan pada penderita infeksi saluran kencing dan *E. coli* ini dapat menyebabkan terjadinya infeksi karena menyerang bagian ginjal. (Salle, 1961, Kesowo & Wibowo, 1984)

Eschericia ini dibedakan menjadi 3 macam, yaitu :

1). *EPEC (Enteropatogenic Eschericia coli)* yaitu bakteri coli yang dapat menimbulkan sakit diare pada bayi.

2). *ETEC (Enterotoxigenic Eschericia coli)* yaitu bakteri coli yang dapat membuat toxin, yang dapat menimbulkan sakit seperti *Vibrio cholera/Eltor.*

Disini dikenal 2 macam toksin yaitu :

(1). Heat Labile Toxin (*LT*); bersifat antigenik, rusak oleh pemanasan 60°C, efeknya lambat dan mempunyai berat molekul yang besar.

(2). Heat Stable Toxin (*ST*); bersifat tidak antigenik, tahan pemanasan 60°C, efeknya cepat dan mempunyai berat molekul yang kecil.

3). *EIEC (Enteroinvasive Eschericia coli)* yaitu bakteri coli yang dapat menimbulkan penyakit seperti bakteri dysentri.

Menurut Keputusan Dirjen POM No. 03726/B/SK/VII/89 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam air susu pasteurisasi untuk MPN *Coliform* tidak boleh lebih dari 10 bakteri kolon/ml. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri golongan coli (Coliform) yang keberadaannya dalam air susu tidak sepenuhnya dikehendaki, dan seberapa jauh kehadirannya adalah bersangkutan langsung dengan kondisi kebersihan produk air susu (Volk & Wheeler, 1989).

b. Bakteri Pseudomonas aeruginosa

Sistimatika bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut :

Divisio : Protophyta

Kelas : Shizomycetes

Ordo : Pseudomondales

Sub Ordo : Psedomondiaceae

Familia : Pseudomonadaceae

Genus : Pseudomonas

Species : *Pseudomonas aeruginosa*

(Frobisher, *et al.*, 1974)

Pseudomonas merupakan bakteri Gram negatif (-), motil, aerobik, beberapa galur memproduksi pigmen yang larut dalam air. Pseudomonas tersebar secara luas pada tanah, air, tanaman, dan binatang. *P. aeruginosa* sering ada dalam jumlah sedikit pada flora normal usus dan kulit manusia dan merupakan patogen utama dari kelompoknya. *P. aeruginosa* bersifat invasif dan toksigenik, mengakibatkan infeksi pada pasien dengan penurunan daya tahan tubuh, dan merupakan patogen nosokomial yang penting.

Morfologi *P. aeruginosa* : berbentuk batang dengan ukuran 0,6 x 2 μm dan dapat bergerak. Merupakan gram negatif dan terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda dan kadang–kadang dalam rantai pendek.

Kultur *P. aeruginosa* : bersifat aerobik obligat yang tumbuh dengan cepat pada berbagai tipe media, kadang memproduksi bau manis, seperti anggur atau seperti jagung (*corn taco like odor*). Beberapa galur menghemolisis darah. *P. aeruginosa* membentuk koloni bulat, halus dengan warna fluoresen kehijauan. Juga sering memproduksi pigmen kebiruan dan tidak fluoresen yang disebut **piosianin** (*pyocyanin*) yang larut dalam agar. Spesies pseudomonas lain tidak memproduksi piosianin. Beberapa galur *P. aeruginosa* juga menghasilkan pigmen fluoresen **pioverdin** (*pyoverdin*) yang memberi warna kehijauan pada agar. Beberapa galur menghasilkan pigmen merah gelap piorubin atau pigmen hitam **piomelanin**.

P. aeruginosa pada biakan dapat memproduksi berbagai kelompok koloni, memberikan kesan biakan campuran beberapa spesies bakteri. *P. aeruginosa* dari bentuk koloni berbeda mungkin juga mempunyai aktivitas biokimia dan enzimatik yang berbeda, dan memberi profil kepekaan yang berbeda terhadap antimikroba.

Sifat pertumbuhan *P. aeruginosa* : tumbuh baik pada suhu 37°C–42°C, pertumbuhan pada 42°C membantu membedakannya dari spesies pseudomonas pada kelompok fluoresen, bersifat oksidase positif. Tidak meragikan karbohidrat, tetapi berbagai galur mengoksidasi glukosa. Identifikasi biasanya berdasar pada bentuk koloni, oksidasi positifnya, adanya pigmen yang khas, dan tumbuh

pada 42°C. Perbedaan pada *P. aeruginosa* dari Pseudomonas lainnya berdasar aktifitas biokimia membutuhkan tes dengan substrat yang banyak.

*P. ae*ruginosa memiliki dua macam antigen yaitu : antigen H dan antigen O, dan paling sedikit ada 7 tipe antigen *P. aeruginosa* yang telah ditetapkan. Kekhususan dari masing-masing antigen ditentukan dengan adanya lipopolisakarida.

Bakteri Pseudomonas merupakan salah satu bakteri patogen yang dapat ditemukan dalam air susu diantara bakteri-bakteri patogen lainnya. Bakteri patogen kebanyakan mempunyai efek patogenesis pada saat berada dalam tubuh, sedangkan Pseudomonas efek patogenesisnya bisa mengakibatkan kebusukan makanan. Menurut Budiyanto, (2002), kemampuan Pseudomonas dalam hal membusukkan makanan didukung oleh sifat bakteri tersebut, diantaranya adalah :

1). Umumnya mendapatkan sumber karbon dari senyawa bukan karbohidrat.
2). Dapat menggunakan senyawa sumber nitrogen sederhana.
3). Kebanyakan spesies bersifat psikrofilik (tumbuh baik pada suhu yang rendah yaitu pada suhu 1,7°C-10°C).
4). Memproduksi senyawa yang menimbulkan bau busuk.
5). Dapat mensintesis faktor-faktor pertumbuhan dan vitamin.
6). Pertumbuhan pada kondisi aerobik berjalan cepat dan biasanya membentuk lendir.

5. Pengujian Mutu Mikrobiologi Air Susu.

Kualitas susu secara bakteriologis ditentukan oleh banyaknya bakteri dan jenis bakteri di dalam susu. Jumlah bakteri di dalam susu ditentukan dengan

analisa kuantitatif dan jenis bakteri di dalam susu ditentukan dengan analisa kualitatif.

a. Analisa Kuantitatif.

Jumlah bakteri di dalam susu dapat dihitung langsung di bawah mikroskop atau dengan cara menetapkan angka lempeng total seperti halnya pada makanan dan air. Khusus untuk susu, media yang dipakai untuk menetapkan angka lempeng total ialah media yang mengandung skim disamping bahan-bahan baku lain, sehingga didapat pertumbuhan yang maksimal dari koloni–koloni kuman penghuni susu. Uji kuantitatif lain untuk mengetahui jumlah bakteri di dalam susu dengan jalan mengetahui aktivitasnya melalui uji reduktase. Bakteri-bakteri dapat memproduksi berbagai macam enzim yang dapat mereduksi berbagai macam substrat. Beberapa macam zat warna peka terhadap reduksi kuman (aktivitas reduktase) dan berubah warna bila mengalami reduksi, sehingga dapat dipakai sebagai indikator.

b. Analisa Kualitatif.

Jenis bakteri di dalam susu ditentukan dengan penambahan contoh susu pada berbagai macam perbenihan, kemudian dari masing-masing koloni bakteri yang tumbuh dilakukan identifikasi bakteri (Trihendrokesowo, 1989)

6. Media Pertumbuhan Bakteri.

Media adalah kumpulan zat-zat organik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri. Media ini terdiri dari campuran zat–zat makanan yang diperlukan untuk pertumbuhan suatu mikroorganisme dalam rangka isolasi,

mengembangbiakkan, perhitungan angka kuman, pengujian biokimiawi, maupun uji sifat fisiologik dari suatu mikroorganisme. (Anonim, 1989).

Untuk mendapatkan suatu lingkungan yang cocok bagi pertumbuhan bakteri, maka media harus memenuhi syarat dalam hal:

a. Susunan media. Dalam suatu media yang digunakan untuk pertumbuhan harus ada air, sumber karbon, sumber nitrogen, mineral, vitamin, dan gas.
b. Tekanan osmose. Sifat bakteri terhadap tekanan osmose sama dengan sifat sel-sel lain. Untuk pertumbuhan bakteri membutuhkan media yang isotonis.
c. Derajat keasaman (pH). Pada dasarnya bakteri membutuhkan pH netral untuk pertumbuhannya (± 7).
d. Suhu. Untuk mendapat pertumbuhan yang optimal di perlukan suhu tertentu. Umumnya bakteri yang patogen membutuhkan suhu sekitar 37°C sesuai dengan suhu tubuh.
e. Sterilisasi. Sterilisasi media merupakan suatu syarat yang sangat penting. Pemeriksaan mikrobiologi tidak mungkin dilakukan bila media yang digunakan tidak steril, karena bakteri yang diidentifikasi atau diisolasi tidak akan dapat dibedakan dengan pasti apakah bakteri berasal dari material yang diperiksa ataukah hanya merupakan kontaminan. Untuk mendapatkan suatu media yang steril maka setiap tindakan (pengambilan media, penuangan media dan lain-lain) dikerjakan secara aseptik dan alat-alat yang digunakan harus steril. (Anonim, 1993)

Media untuk isolasi bakteri *E. coli* adalah *Lactose Broth* dan *Mac Concey agar,* dan untuk angka kumannya digunakan media *Brilliant Green Lactosa Bile Broth (BGLB).* Sedangkan media untuk isolasi bakteri *P. aeruginosa* adalah media *Brain Hearth Infusion (BHI) broth* dan media *Mac Concey agar (MC agar),* selain itu digunakan juga media agar darah (*Blood Plate agar*) dan untuk angka kumannya digunakan media *Mueller Hinton agar.* Medium sebaiknya disimpan di tempat yang bersih dengan udara kering yang penguapannya tidak berlebihan, dan kemungkinan adanya bahaya kontaminasi telah dikurangi. Media cair bila disimpan dalam lemari es atau suhu yang rendah dapat melarutkan udara, dan bila diinkubasi pada 35°C, akan menimbulkan gelembung udara dalam tabung peragian. Karena itu harus dimasukkan ke dalam suhu 35°C terlebih dahulu selama satu malam sebelum digunakan dan tabung-tabung yang berisi udara tidak boleh digunakan (Wibowo, 1988).

7. Isolasi dan Identifikasi Bakteri.

Mikroba tidak mempunyai ciri anatomi yang nyata, sehingga identifikasi bakteri didasarkan pada morfologi, sifat biakan dan sifat biokimiawi. Morfologi mikroorganisme berdasarkan bentuk, ukuran, dan penataan biasanya tidak cukup untuk melakukan identifikasi. Ciri lainnya seperti pewarnaan, pola pertumbuhan koloni dan reaksi pertumbuhan pada karbohidrat sangat membantu dalam identifikasi mikroba.

Mikroorganisme yang akan diisolasi berupa biakan murni atau populasi campuran. Bila biakan yang akan diidentifikasi tercemar, maka perlu dilakukan pemurnian terlebih dahulu. Pemurnian dilakukan dengan cara menggores

suspensi mikroba yang akan diisolasi pada media selektif (media yang digunakan untuk memilih koloni satu jenis bakteri dari koloni-koloni yang lain). Setelah diperoleh koloni terpisah, dibuat pewarnaan Gram dari beberapa koloni untuk melihat kemurnian biakan. Setelah diperoleh biakan murni dapat dilakukan serangkaian uji biokimiawi untuk memperoleh ciri morfologi dari isolat. Setiap uji yang dilakukan harus menggunakan kontrol untuk mengetahui apakah media serta reagen yang digunakan memenuhi persyaratan. Selain itu dengan adanya kontrol dapat digunakan untuk menilai apakah teknik yang digunakan benar dan tepat. Uji yang dilakukan untuk masing–masing kelompok bakteri tidaklah sama.

Tahapan cara isolasi dan identifikasi bakteri dari suatu suspensi meliputi :

a. Inokulasi Bakteri

   Inokulasi merupakan usaha penanaman mikroba ke dalam suatu media. Menurut ujudnya dikenal 3 macam media, yaitu : media cair, media padat, dan media semi padat. Tujuan dari inokulasi adalah untuk memperbanyak dan mengidentifikasi bakteri.

b. Uji Biokimiawi

   Setelah diperoleh koloni yang terpisah, dapat dilakukan berbagai uji biokimiawi. Uji biokimiawi didasarkan pada berbagai hasil metabolisme yang disebabkan oleh daya kerja enzim. Jarang sekali dapat ditentukan suatu genus berdasarkan sifat morfologi atau biakan saja. Ini berarti bahwa penentuan suatu spesies memerlukan kumpulan berbagai sifat biokimiawi dari suatu mikroorganisme.

c. Pewarnaan Gram.

Setelah diperoleh koloni yang terpisah maka dilakukan pengecatan Gram untuk mengetahui sifat Gram (apakah termasuk Gram negatif atau Gram positif) dan morfologi dari suatu mikroorganisme.

8. Perhitungan Jumlah Bakteri.

Perhitungan angka kuman dalam susu dapat dilakukan dengan menggunakan perhitungan cawan standar metode tuang (*Pour Plate*) untuk menghitung angka kuman total dan dengan metode *Most Probable Number* (MPN) yaitu perkiraan terdekat jumlah, yang digunakan untuk menghitung kuman *E. coli*.

a. Penghitungan cawan standar memberikan petunjuk tentang jumlah kira-kira bakteri dalam susu. Susu yang diolah dengan baik angka kumannya akan lebih sedikit dibanding dengan yang diolah dengan tidak semestinya. Penghitungan cawan standar ini merupakan dasar bagi penentuan derajad keamanan susu.

Metode hitungan cawan merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik karena beberapa hal yaitu :

1). hanya sel yang masih hidup dapat dihitung

2). beberapa jenis jasad renik dapat dihitung sekaligus

3). dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi jasad renik karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari suatu jasad renik yang mempunyai penampakan pertumbuhan spesifik.

b. *Metode Most Probable Number* (MPN) dapat digunakan untuk menghitung mikroorganisme lainnya, dimana perhitungannya dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif (+) ditumbuhi oleh mikroorganisme, yang ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham setelah diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

Dalam metode MPN ini pengencerannya harus dilakukan lebih tinggi daripada metode cawan, sehingga beberapa tabung yang berisi medium cair yang diinkubasi dengan larutan hasil pengenceran tersebut mengandung 1 sel kuman, sedang yang lainnya tidak mengandung sel kuman. Diharapkan setelah diinkubasi terjadi pertumbuhan pada beberapa tabung yang dinyatakan sebagai tabung positif (+).

Dari setiap seri pengenceran dimasukkan 1 ml suspensi kuman ke dalam tabung yang berisi medium dimana digunakan seri pengenceran 5–1–1, karena sample yang digunakan adalah sample yang sudah mengalami pengolahan. Angka kombinasi dari tabung yang positif (+) gas kemudian dicocokkan dengan tabel MPN (Fardiaz, 1988).

9. Uji Reduktase.

Apabila biru metilen ditambahkan kepada sejumlah air susu yang telah diukur, waktu yang diperlukan pewarna biru untuk direduksi menjadi senyawa yang tidak berwarna adalah ukuran jumlah bakteri yang terdapat dalam air susu. Air susu yang steril tidak dapat mereduksi biru metilen, dengan demikian laju produksi biru metilen berbanding lurus dengan jumlah bakteri dalam air susu. Air susu dengan kualitas terbaik akan mereduksi biru metilen menjadi senyawa yang

tidak berwarna dalam waktu 5,5 jam, sedangkan air susu yang jelek mungkin menyelesaikannya dalam waktu kurang dari 2 jam. (Volk dan Wheeler, 1989)

Sedangkan menurut Ismadi (1987), susu yang baru saja diperah dan memang susu yang baik memerlukan waktu reduksi selama 5,5 hingga 8 jam, bahkan sering lebih. Sedangkan susu yang penuh bakteri dapat dengan langsung menghilangkan warna biru metilen. Reduksi dari zat-zat pewarna disebabkan oleh Mikrococcen dan Streptococcen dari asam susu terutama pada umur yang muda. Bakteri-bakteri dari kelompok coli-aerogenes mempunyai kemampuan yang sama kuatnya dengan Streptococcen dari asam susu. Dalam susu pasteurisasi kemampuan bakteri untuk mereduksi biru metilen ini sangat dihambat.

Tabel I. Klasifikasi susu berdasarkan uji reduktase (Fardiaz, 1989)

Kelas	Mutu	Keterangan
1	Sangat baik	Tidak berubah warnanya setelah uji selama 8 jam.
2	Baik	Berubah warna dalam waktu 6 jam sampai kurang dari 8 jam.
3	Sedang	Berubah warna dalam waktu 2 jam sampai kurang dari 6 jam.
4	Buruk	Berubah warna dalam waktu kurang dari 2 jam setelah dimulainya pengujian.

10. Keasaman dan pH Susu.

Susu mempunyai sifat amfoter, artinya dapat bersifat asam dan basa sekaligus. Jika diberi kertas lakmus biru, maka warnanya akan menjadi merah, sebaliknya jika diberi kertas lakmus merah warnanya akan berubah menjadi biru. *Potensial hydrogen* (pH, ada yang menyebutkan *power of hydrogen ion*) susu

normal terletak antara 6,45–6,80, hal ini dikarenakan susu mempunyai sistem penyangga yang terdiri atas garam–garam sitrat, fosfat dan bikarbonat.

Jika dititrasi dengan alkali (NaOH) dan indikator *phenolphtalin*, total asam dalam susu diketahui hanya 0,10–0,26 % saja. Sebagian besar asam yang ada dalam susu adalah asam laktat. Adanya asam dalam susu disebabkan oleh aktivitas bakteri–bakteri pembentuk asam. Bakteri tersebut dapat merubah gula (laktosa) menjadi asam laktat.

$$\underset{\text{laktosa}}{C_{12}H_{22}O_{11}} + H_2O \xrightarrow[\text{asam laktat}]{\text{bakteri pembentuk}} \underset{\text{asam laktat}}{4\ C_3H_6O_3}$$

Meskipun demikian keasaman susu dapat disebabkan oleh berbagai senyawa yang bersifat asam seperti senyawa–senyawa fosfat komplek, asam sitrat, sifat kasein dan albumin dan terlarutnya karbondioksida (CO_2) dalam susu.

B. Landasan Teori

Susu pasteurisasi merupakan susu murni yang telah mengalami proses pasteurisasi yaitu dengan cara pemanasan pada suhu di bawah 100°C. Setelah dipasteurisasi, harus segera didinginkan sampai suhu 7,2°C atau lebih rendah dengan maksud untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang masih hidup.

Menurut Hadiwiyoto (1994), susu pasteurisasi adalah susu segar yang telah mengalami proses pemanasan pada suhu di bawah 100°C. Standar pasteurisasi menggunakan suhu 62°C selama 30 menit atau suhu 71°C selama 15 detik. Pemanasan tersebut bertujuan mematikan bakteri-bakteri patogen, sehingga

susu pasteurisasi dalam jangka waktu tertentu aman untuk diminum tanpa harus dipanaskan lagi. Pada penyimpanan dingin kurang lebih 4°C susu pasteurisasi tidak rusak dalam waktu kurang lebih 7 hari.

Sekalipun telah mengalami pasteurisasi, namun air susu yang 100% bebas mikroorganisme patogen itu jarang atau sama sekali tidak ada. Bakteri yang selalu ada dalam susu yaitu bakteri penghasil asam susu dari famili Lactobacilaceae, famili Streptococcaceae, famili Enterobacteriaceae, famili Pseudomonadaceae dan dari marga-marga Micrococcus, Staphylococcus dan Bacillus. Spesies ini cepat sekali berkembang biak dan mudah menguraikan gula (laktosa) menjadi asam laktat yang menyebabkan susu menjadi rusak dengan rasa asam dan apabila dikonsumsi akan timbul keluhan berupa sakit perut, diare maupun kejang perut.

Menurut Keputusan Dirjen POM No. 03726/B/SK/VII/89 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam air susu pasteurisasi untuk MPN *Coliform* tidak boleh lebih dari 10 bakteri kolon/ml. Keberadaan bakteri *E. coli* yang merupakan bakteri golongan Coliform tidak sepenuhnya dikehendaki, dan seberapa jauh kehadirannya adalah bersangkutan langsung dengan kondisi kebersihan produk air susu. Begitu juga dengan bakteri *P. aeruginosa* yang merupakan spesies yang bersifat psikrofilik (tumbuh baik pada suhu yang rendah yaitu pada suhu 1,7°C-10°C) dan efek patogenesisnya terutama menimbulkan kebusukan makanan, maka keberadaannya pada susu pasteurisasi tidak diharapkan.

Adanya bakteri dalam air susu terutama bakteri-bakteri penghasil asam susu akan menyebabkan susu menjadi asam sehingga pH susu menjadi turun.

Semakin tinggi jumlah bakteri dalam susu maka semakin cepat bakteri mereduksi larutan biru methylen, sehingga angka reduktasenya semakin kecil (Fardiaz, 1989).

Patogenitas dari bakteri *E. coli* menyebabkan infeksi sistem saluran kencing, diare, sepsis, dan meningitis. Berdasarkan temuan klinis, bakteri *P. aeruginosa* dapat menginfeksi *tractus urogenitalis*, *septikemia*, *ulcus cornea*, *gastroenteritis* pada anak-anak dan meningitis.

C. Hipotesis

Lamanya waktu penyimpanan akan meningkatkan jumlah kuman dalam susu pasteurisasi.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat penelitian.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

a. Alat-alat gelas : tabung reaksi, pipet ukur, pipet tetes, pipet volum, labu erlenmeyer, gelas beker, gelas obyek, piring petri, labu ukur, buret.

b. Inkubator (Memert), autoklaf (Omron), mikroskop (Nikon), mikropipet (Finnpipette), ose bulat, ose runcing, lampu spiritus, pH meter, timbangan analitik, *stopwatch*, penangas air, termometer, lampu spiritus, *colony counter* (Hellige).

2. Bahan penelitian.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Bahan utama yang akan digunakan adalah salah satu produk susu pasteurisasi tanpa rasa (tawar) yang diperoleh dari distributor yang berada di Jalan Kaliurang Km. 7 Jogjakarta.

b. Bahan untuk penghitungan angka kuman bakteri *E. coli* adalah media *Lactosa Broth* (Oxoid) dan media *BGLB* (Oxoid), sedangkan untuk penghitungan angka kuman total digunakan media *Mueller Hinton agar* (Oxoid) dan NaCl fisiologis.

c. Bahan untuk isolasi bakteri *E. coli dan P. aeruginosa* adalah media *BHI Broth*, media *Mac Conkey agar* dan media agar darah. Bahan untuk

identifikasi bakteri adalah sederet media gula–gula (glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, sakarosa), media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media *Sulfida Indol Motility* (SIM), dan media *Simmon's Citrate agar* (SC).

d. Bahan untuk uji reduktase yaitu : methylen blue, paraffin liquidum, dan aquadest.

e. Bahan yang digunakan untuk uji kadar asam adalah : larutan NaOH 0,01 N, larutan *phenolphtalein* (PP) 1 %, dan aquades.

f. Cat bakteri, digunakan cat Gram yang terdiri dari :

1) Gram A (Carbol gentian violet)

1 gram gentian violet

10 ml alkohol 96 %

1 gram phenol kristal

90 ml aquades

2) Gram B (lugol)

1 gram yodium

2 gram kalium yodida

300 ml aquades

3) Gram C (alkohol 96 %)

4) Gram D (Solutio fuchsin 1%)

1 gram basic fuchsin

100 ml aquades

g. Alkohol, minyak immersi.

h. Reagen *Covacs* (Merck KGa A)

B. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan sampel.

Pengambilan sampel berupa susu pasteurisasi dilakukan sebanyak 1 kali yang langsung dikenakan perlakuan waktu, dan langsung diperiksa di laboratorium.

2. Perlakuan sampel.

Sampel dibagi dalam tiga botol yang masing-masing dikenai perlakuan waktu penyimpanan yang berbeda yaitu 2, 4, dan 6 hari pada suhu 5°C. Penetapan waktu penyimpanan tersebut diambil dari batasan waktu pertumbuhan bakteri pada susu, yaitu pada suhu 4°C pertumbuhan bakteri akan terhambat dan susu akan tahan 6 sampai 7 hari.

3. Pemeriksaan pH.

Pemeriksaan pH dilakukan dengan menggunakan kertas pH, dimana kertas ini dicelupkan ke dalam susu yang diperiksa kemudian perubahan warna yang terjadi dibandingkan dengan standart warna yang ada pada label kertas pH untuk mnentukan berapa pH dari sampel tersebut.

4. Uji Reduktase.

Uji reduktase dilakukan dengan cara sebanyak 10,0 ml air susu dipipet secara steril dan dimasukkan ke dalam tabung yang bertutup. Kemudian ditambahkan larutan biru methylen sebanyak 1,0 ml, dan dicampur dengan cara dibolak-balik sehingga warna biru merata. Kemudian ditambahkan paraffin cair sebanyak 10 tetes. Segera tabung tersebut ditempatkan di dalam penangas air dengan suhu 40°C, dan diamati perubahan warnanya menjadi putih. Waktu

reduksi (*methylene blue reduction time* disingkat *MBRT*) yaitu waktu dimana empat per lima bagian contoh susu di dalam tabung telah berubah warnanya menjadi putih disebut sebagai angka reduktase. Larutan biru methylene dibuat dengan cara melarutkan 0,01 gram biru methylene ke dalam 200 ml aquades.

5. Uji kadar asam.

   a. Membuat NaOH 0,01 N.

      Ditimbang NaOH sebanyak 0,04 gram dilarutkan dengan 100 ml aquades bebas CO_2.

   b. Standarisasi larutan NaOH 0,01 N menggunakan Kalium Hydrogen Phtalat (KHP).

      1) Dibuat larutan KHP 0,01 N dengan cara menimbang KHP sebanyak 0,2042 gram dan dilarutkan dengan 100 ml aquades.

      2) Dipipet 25,0 ml larutan KHP dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambah indikator Phenolpthalein 1% kemudian dititrasi dengan larutan yang akan distandarisasi yaitu larutan NaOH 0,01 N.

   c. Uji kadar asam susu.

      1) Ditimbang susu sebanyak 18 gram (setara ± 17,5 ml) dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, ditambahkan 2–3 tetes indikator phenolpthalein 1 %. Jika susunya kental maka dapat diencerkan dengan aquades sebelum dititrasi.

      2) Dititrasi dengan larutan NaOH 0,01 N sampai warnanya berubah menjadi merah dan tidak hilang dalam waktu 30 detik.

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
PERPUSTAKAAN
FMIPA

6. Perhitungan angka kuman total.

Pengenceran sampel: diambil sebanyak 1 ml sampel susu pasteurisasi kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl fisiologis steril dicampur hingga merata sehingga diperoleh pengenceran 10^{-1}. Dari pengenceran 10^{-1} diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl fisiologis steril yang lain, diperoleh pengenceran 10^{-2}, dari pengenceran 10^{-2} diambil 1ml dan dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl fisiologis steril sehingga didapat pengenceran 10^{-3}, dari pengenceran 10^{-3} diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl fisiologis steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-4}.

Larutan hasil pengenceran diambil masing–masing 1 ml, dimasukkan ke dalam petri dish steril. Kemudian dituangi media MH agar sebanyak 15–20 ml per–dish. Dicampur sampai homogen, yaitu dengan diputar sebanyak 5 kali searah jarum jam dan 5 kali berlawanan arah jarum jam. Diamkan diatas meja sampai agar–agarnya membeku, kemudian diinkubasi dengan posisi terbalik dalam inkubator pada suhu 37°C–39^0 C selama 2 x 24 jam. Dihitung jumlah koloni bakteri dan pilih seri pengenceran dimana terdapat 30–300 koloni. Kontrol sterilitas dibuat 1 petri dish steril diisi 1 ml pelarut, dituangi media yang digunakan. Angka kuman ditentukan hasilnya dengan menghitung jumlah koloni dikalikan faktor pengenceran, dilakukan replikasi 3 kali dan angka kumannya diperoleh dari rata-rata 3 kali replikasi.

7. Perhitungan bakteri *E. coli* dengan metode MPN.

Pada perhitungan bakteri dengan metode MPN didasarkan pada jumlah tabung yang positif ditumbuhi oleh jasad renik dengan terbentuknya gas pada

tabung Durham. Pada pemeriksaan dengan methode MPN ini digunakan ragam LB 5x10 ml, 1x1 ml, 1x0,1 ml ; karena sampel yang diperiksa sudah mengalami pengolahan dan diperkirakan angka kumannya rendah.

a. Spesimen yang diperiksa ditanam dalam :
   - 5 tabung *Lactose broth Triple strength* masing–masing 10 ml.
   - 1 tabung *Lactose broth single strength*, 1 ml.
   - 1 tabung *Lactose broth single strength*, 0,1 ml.
   - Masuk inkubator 37°C 48 jam.

b. Tiap–tiap tabung LB yang menunjukkan positif gas ditanam kedalam tabung BGLB. Diinkubasi 2 x 24 jam pada 37°C.

c. Dibaca dan dicatat BGLB yang menunjukkan positif gas, masing-masing ditanam di MC agar, masuk inkubator 37°C 24 jam. Untuk mendapatkan index MPN *E. coli*, digunakan tabel MPN berdasarkan tabung–tabung BGLB positif gas.

d. Koloni yang tersangka *E. coli* ditanam pada media gula–gula, SIM (untuk mengetahui produksi indol) dan *Simmons Citrate* (untuk mengetahui kemampuan bakteri dengan citrate sebagai sumber karbon) serta TSI agar.

e. Dibaca dan dicatat pertumbuhan pada media gula-gula, TSIA, SIM, dan SC untuk memastikan apakah *E. coli* atau bukan. Kemudian dicari pada tabel MPN untuk menentukan index MPN *E. coli.*

8. Isolasi bakteri bentuk batang gram negatif (-).

Dari sample susu yang telah mengalami perlakuan waktu, masing–masing dituangkan pada media *BHI Broth* sama banyak, kemudian diinkubasi pada suhu

37°C selama 24 jam. Kemudian dari media *BHI Broth* ditanam pada media agar darah dan media *MC agar* sebagai media selektif untuk bakteri gram negatif (-), lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Untuk bakteri *E.coli* isolasinya ini disebut dengan tes perkiraan. Dari 3 kelompok sampel yang disimpan pada waktu yang berbeda, masing–masing dilakukan pengenceran dan ditanam secara merata pada media *LB*. Kemudian diinkubasi selama 2 x 24 jam pada suhu 35°C, lakukan pengamatan ada tidaknya gas dalam tabung Durham.

9. Pengecatan Gram.

Koloni bakteri yang akan dicat dibuat sediaan diatas objek glas terlebih dahulu menggunakan air garam fisiologis, kemudian difiksasi yang berfungsi untuk merekatkan bahan pemeriksaan pada obyek glass, mematikan bakteri-bakteri atau sel–sel dengan cepat sedapat–dapat dalam sikap seperti sebelum dimatikan, mengawetkan preparat sehingga dapat tahan lama bila disimpan, dan memudahkan bakteri atau sel mengambil warna.

a. Sediaan yang sudah difiksasi digenangi dengan cat Gram A sampai menutupi seluruh sediaan, diamkan selama 1 menit. Cuci dengan air sebentar. Pada pengecatan dengan Gram A, semua bakteri akan berwarna violet.
b. Selanjutnya sediaan digenangi dengan cat Gram B selama 1 menit. Cuci dengan air sebentar. Pada pengecatan dengan Gram B akan menyebabkan pengikatan warna dari cat Gram A oleh bakteri semakin kuat dan terjadi perubahan, yang tadinya berwarna violet berubah menjadi violet tua-hitam.

c. Sediaan ditetesi cat Gram C selama ± 30 detik dengan menggenangi seluruh sediaan sampai tidak kelihatan adanya warna merah yang luntur. Cuci dengan air sebentar. Pada pemberian cat Gram C maka : bakteri Gram positif tahan terhadap alkohol (ikatan antara cat dengan bakteri tidak dilunturkan oleh alkohol sehingga bakteri akan tetap berwarna ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif tidak tahan terhadap alkohol sehingga warna ungu dari cat dilunturkan dan bakteri menjadi tidak berwarna.

d. Sediaan ditetesi cat Gram D selama 30 detik. Cuci dengan air sampai bersih. Cat Gram D bertindak sebagai warna kontras. Akibat pemberian cat Gram D, maka bakteri Gram positif tetap berwarna violet, sedangkan bakteri Gram negatif akan berwarna merah oleh *basic fuchsin* di dalam Gram D.

e. Sediaan dikeringkan pada suhu kamar kemudian diperiksa di bawah mikroskop menggunakan perbesaran kuat (objektif 100x). Perbesaran kuat juga disebut sebagai perbesaran immersi karena untuk melihat bakteri digunakan minyak immersi (diteteskan pada preparat).

10. Identifikasi Bakteri.

Uji ini disebut dengan tes penegasan, yaitu dilakukannya pengamatan hasil penanaman pada media *BGLB*, yaitu dengan melihat adanya perubahan setelah diinkubasi berupa terbentuknya gas dari tabung Durham. Dari tabung *BGLB* yang positif kemudian dilakukan identifikasi lebih lanjut yaitu dengan menanamnya pada media *MC agar*. Kemudian diinkubasi selama 1 x 24 jam pada suhu ± 37°C, lakukan pengamatan secara visual ciri–ciri masing–masing bakteri dan lakukan

juga pengecatan Gram. Untuk uji biokimiawi dari masing–masing bakteri, dilakukan penanaman pada media gula–gula, media *TSIA*, media *SIM*, dan media *SC*, inkubasi selama 1 x 24 pada suhu 37°C.

Ciri koloni dari bakteri *E. coli* : berukuran besar–besar, cembung, berwarna merah tua methalic dan halus. Ciri koloni dari bakteri *P.aeruginosa* : berukuran kecil–sedang, bulat, cembung, agak berkabut, halus, dan berpigmen hijau (media menjadi agak hijau).

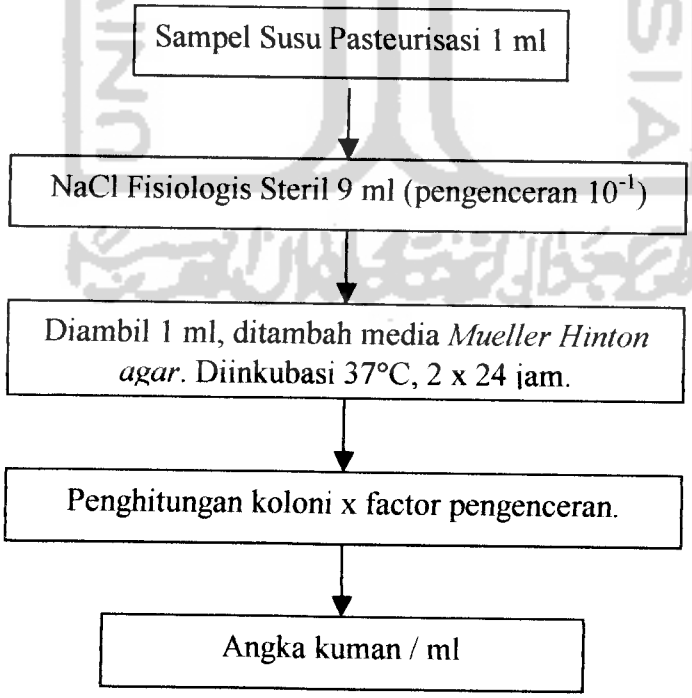
Tabel II. Daftar uji biokimiawi untuk bakteri *Eschericia coli* (Soemarno, 2000)

Uji		Hasil
Fermentasi :	Glukosa	(+) gas / (+)
	Laktosa	+ / -
	Mannitol	+
	Maltosa	+
	Sukrosa	+ / -
Media TSIA :	lereng	Berwarna kuning
	dasar	Berwarna kuning
	gas	Positif / negatif
Media SIM :	H_2S	Negatif / positif
	Indol	Positif
	Motility	Aktif
Simmon's citrate		Negatif
Methyl red		Positif
Voges Proskauver		Negatif
Catalase test		Positif
Oxidase test		Negatif

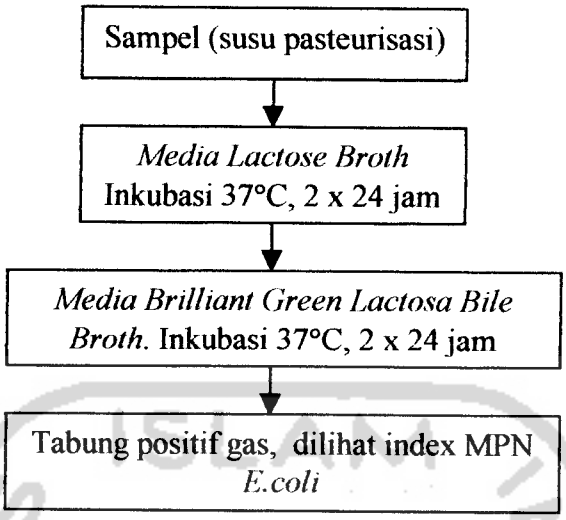
Tabel III. Daftar uji biokimiawi untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Soemarno, 2000)

Uji	Hasil
Fermentasi glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, sakarosa	Negatif
Media TSIA : lereng dasar gas	Berwarna merah Berwarna merah Negatif
Media SIM : H_2S Indol Motility	Negatif Negatif Negatif
Simmon's citrate	Positif
Catalase test	Positif
Oxidase test	Positif

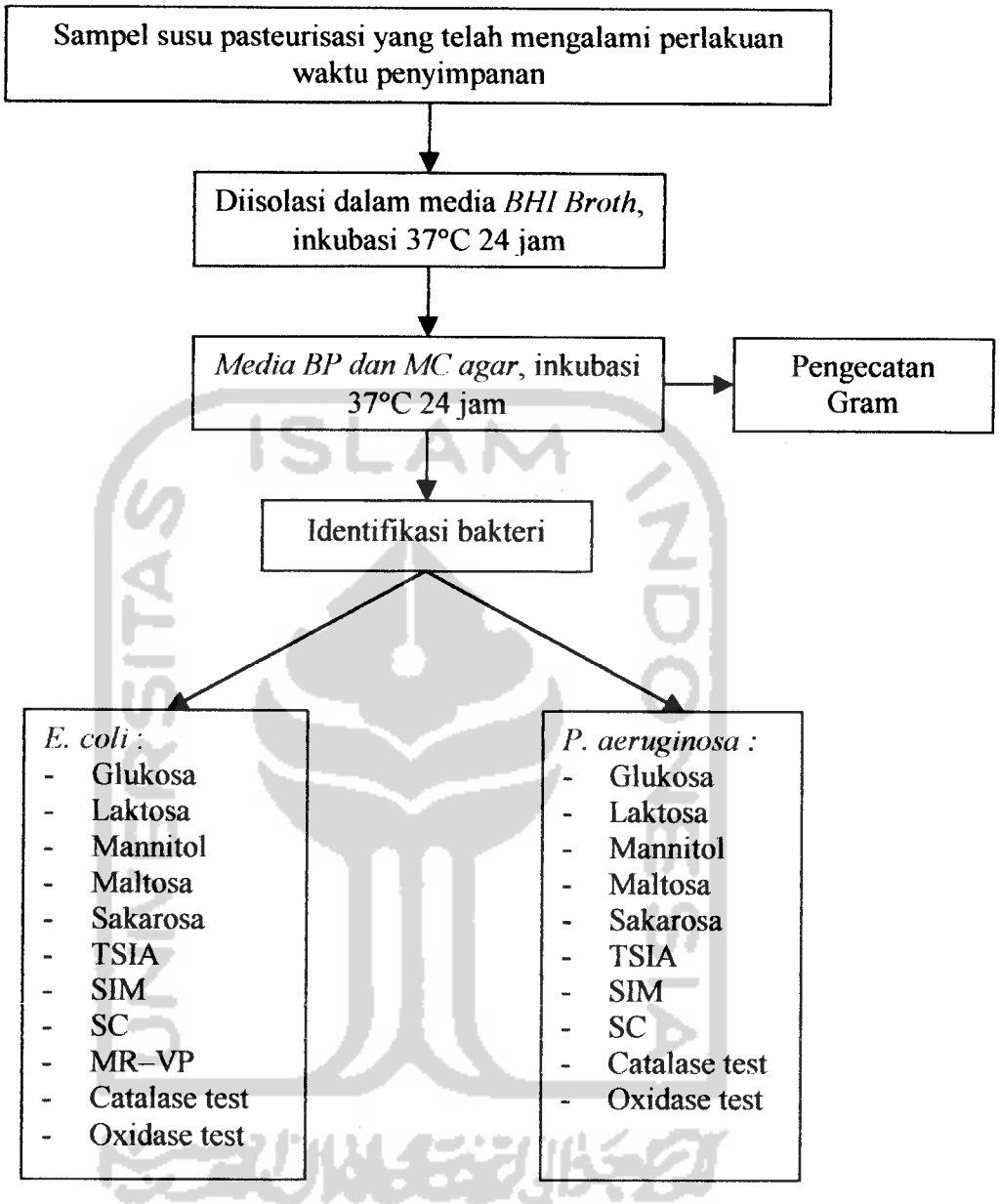
Secara ringkas mengenai jalannya penelitian dapat dilihat pada gambar 1, gambar 2 dan gambar 3.



Gambar 1. Skema perhitungan angka kuman total.



Gambar 2. Skema angka kuman MPN *E.coli*



Gambar 3. Skema isolasi dan identifikasi bakteri

Keterangan :
BHI Broth = *Brain Hearth Infusion Broth*
BP agar = *Blood Plate agar*
MC agar = *Mac Conkey agar*
TSIA = *Triple Sugar Iron Agar*
SIM agar = *Sulfida Indol Motility*
SC agar = *Simmon's Citrate agar*
MR–VP = *Methyl Red–Voges Proskauer*

C. Analisis Data

Metode analisis data yang digunakan adalah metode korelasi bivariate yaitu melihat hubungan antara lamanya waktu penyimpanan dengan jumlah angka kuman.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Perhitungan Angka Kuman Total

Perhitungan angka kuman total dilakukan dengan metode *Plate Count* cara *Pour Plate* dan menggunakan media *MH Agar*, supaya didapatkan pertumbuhan bakteri yang baik. Metode *Plate Count* ini dilakukan dengan cara menuangkan sampel dari seri pengenceran yang dipilih ke dalam piring petri yang kemudian ditambah agar cair steril dan digoyang supaya homogen, sehingga didapatkan pertumbuhan bakteri yang merata setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Sampel yang akan diperiksa dibuat seri pengenceran terlebih dahulu untuk mendapatkan lempengan agar dengan jumlah koloni antara 30–300 koloni, sehingga memungkinkan untuk dilakukan perhitungan angka kuman. Pada pengenceran digunakan larutan garam fisiologis 0,95 % karena larutan ini tidak menyebabkan lisis maupun kematian sel.

Hasil analisis perhitungan angka kuman total menunjukkan rata–rata perhitungan kuman (CFU/ml) yaitu pada sampel hari ke–nol (belum mengalami perlakuan penyimpanan) angka kumannya sebanyak 3,15 x 10^4 CFU/ml, sedangkan untuk angka kuman tertinggi yaitu setelah mengalami perlakuan penyimpanan selama 6 hari = 3,67 x 10^5 CFU/ml. Angka kuman pada hari terakhir pemeriksaan ini mengalami peningkatan cukup tinggi, yang jumlah kumannya sudah tidak memenuhi persyaratan yang ditentukan oleh BPOM. Hal ini menunjukkan bahwa susu pasteurisasi tersebut sudah tidak layak untuk

dikonsumsi setelah penyimpanan selama 6 hari pada suhu 5°C. Adanya pertumbuhan bakteri pada sampel yang diperiksa mengakibatkan rusaknya susu. Banyaknya jenis bakteri di dalam air susu biasanya dikaitkan dengan keadaan sanitasi, lamanya waktu penyimpanan, lamanya waktu antara pemerahan ke proses pengolahan selanjutnya ataupun pada susu yang mengalami proses pasteurisasi yang tidak sempurna. Bakteri yang terdapat dalam air susu, terutama bakteri *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri pembusuk yang dapat merusak kualitas air susu pasteurisasi dengan jalan memecah protein dari susu tersebut. Hasil perhitungan angka kuman untuk masing–masing sampel yang diperoleh dapat dilihat pada tabel IV. Sedangkan perhitungan rata-rata jumlah angka kuman total dapat dilihat pada tabel V.

Uji analisis statistik dengan menggunakan uji korelasi diperoleh hasil bahwa terdapat hubungan yang sangat erat antara jumlah angka kuman total dengan waktu penyimpanan. Semakin lama waktu penyimpanan maka jumlah angka kuman totalnya semakin meningkat. Untuk selengkapnya hasil uji korelasi ini dapat dilihat pada lampiran 1.

Tabel IV. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni

Perlakuan penyimpanan	Sampel	Pengenceran	Jumlah koloni			$\bar{X}$	SD
			1	2	3		
0 hari	I	Kontrol	0	1	0	0,33	0,58
		1 : 100	115	110	118	114,33	4,04
		1 : 1000	50	49	51	50	1
	II	Kontrol	0	0	0	0	0
		1 : 100	120	125	116	120,33	4,51
		1 : 1000	55	59	50	54,67	4,51
	III	Kontrol	0	0	1	0,33	0,58
		1 : 100	109	121	117	115,67	6,11
		1 : 1000	47	52	51	50	2,65
2 hari	I	Kontrol	0	0	0	0	0
		1 : 100	170	171	174	171	2,08
		1 : 1000	92	90	100	94	5,29
	II	Kontrol	0	0	1	0,33	0,58
		1 : 100	169	175	173	172,33	3,06
		1 : 1000	91	101	99	97	5,29
	III	Kontrol	0	0	0	0	0
		1 : 100	174	180	179	177,67	3,21
		1 : 1000	101	108	103	104	3,61
4 hari	I	Kontrol	0	0	0	0	0
		1 : 100	285	280	290	285	5
		1 : 1000	130	129	133	130,67	2,08
	II	Kontrol	0	1	0	0,33	0,58
		1 : 100	293	289	295	292,33	3,06
		1 : 1000	139	135	140	138	2,65
	III	Kontrol	0	0	0	0	0
		1 : 100	288	291	295	291,33	3,51
		1 : 1000	135	139	142	138,67	3,51
6 hari	I	Kontrol	0	0	1	0,33	0,58
		1 : 1000	149	155	159	154,33	5,03
		1 : 10000	50	56	60	55,33	5,03
	II	Kontrol	0	0	0	0	0
		1 : 1000	159	161	156	158,67	2,52
		1 : 10000	62	61	59	60,67	1,53
	III	Kontrol	0	1	0	0,33	0,58
		1 : 1000	163	160	157	160	3
		1 : 10000	62	57	54	57,67	4,04

Keterangan :

1, 2, 3 = Replikasi penanaman pada media
I, II, III = Sampel

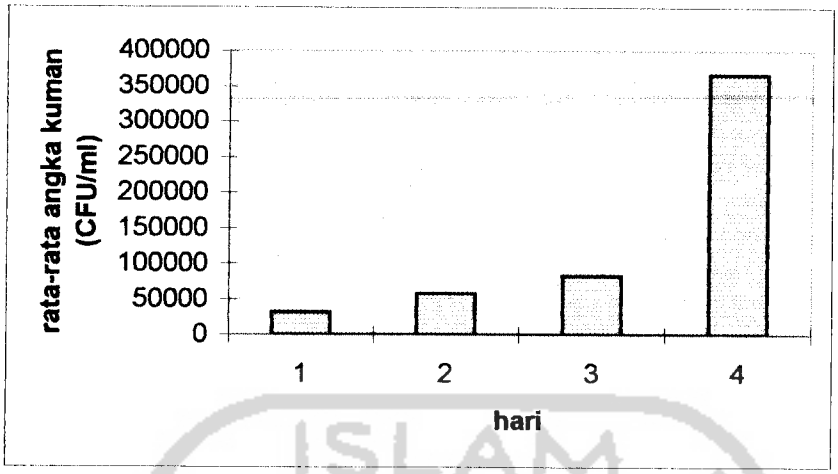
Tabel V. Hasil Perhitungan Angka Kuman Total

Perlakuan penyimpanan	Sampel	Jumlah angka kuman (CFU/ml)		
		1	2	3
0 hari	I	30.750	29.450	31.400
	II	33.500	35.750	30.800
	III	28.950	32.050	30.800
2 hari	I	54.000	53.550	58.700
	II	53.950	59.250	57.600
	III	59.200	63.000	60.450
4 hari	I	79.250	78.500	81.000
	II	84.150	81.400	87.250
	III	81.900	84.050	85.750
6 hari	I	32.4500	35.7000	37.4000
	II	38.9500	38.5500	37.3000
	III	39.1500	36.0000	34.8500

Tabel VI. Hasil Perhitungan Rata–Rata Angka Kuman Total

Sampel	Jumlah angka kuman setelah perlakuan penyimpanan			
	0 hari	2 hari	4 hari	6 hari
I	$3{,}05 \times 10^4$	$5{,}54 \times 10^4$	$7{,}96 \times 10^4$	$3{,}52 \times 10^5$
II	$3{,}34 \times 10^4$	$5{,}69 \times 10^4$	$8{,}43 \times 10^4$	$3{,}83 \times 10^5$
III	$3{,}06 \times 10^4$	$6{,}09 \times 10^4$	$8{,}39 \times 10^4$	$3{,}67 \times 10^5$
$\bar{X}$	$3{,}15 \times 10^4$	$5{,}77 \times 10^4$	$8{,}26 \times 10^4$	$3{,}67 \times 10^5$
SD	$1{,}65 \times 10^3$	$2{,}84 \times 10^3$	$2{,}61 \times 10^3$	$1{,}55 \times 10^4$

Hasil perhitungan rata–rata jumlah kuman ini dapat dibuat suatu grafik yang dapat dilihat pada gambar 4. Dari grafik hasil perhitungan rata-rata angka kuman total dapat dilihat bahwa semakin lama waktu penyimpanan semakin banyak jumlah angka kumannya.



Gambar 4. Grafik Perhitungan Rata – rata Angka Kuman Total

B. Hasil Perhitungan MPN untuk *E. coli*

Pada penelitian ini dilakukan perhitungan bakteri *E. coli* yang merupakan bakteri golongan Coliform menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) *E. coli* yaitu perkiraan terdekat jumlah bakteri *E. coli*. Perhitungan dengan metode MPN ini terdiri dari tiga tahap, yaitu : tahap I (uji dugaan) pada media LB, tahap II (uji kepastian) pada media BGLB, dan tahap III (uji kesempurnaan) pada sederet media uji biokimiawi. Untuk menghitung coliform susu digunakan medium BGLB karena medium ini merupakan medium yang selektif yang mengandung garam bile dan *brilliant green*, sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif termasuk bakteri asam laktat yang terdapat dalam susu. Dengan menggunakan BGLB akan dihindari pembacaan uji positif yang salah karena selain coliform, bakteri asam laktat juga dapat memfermentasi laktosa di dalam susu menghasilkan gas.

Inkubasi tabung MPN dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam, dan tabung dinyatakan positif jika terbentuk gas sebanyak 10 % atau lebih dari volume tabung Durham. Tabung yang tidak menunjukkan pembentukan gas diperpanjang lagi inkubasinya sampai 48 jam. Jika tetap tidak terbentuk gas, dihitung sebagai tabung negatif. Prosedur MPN pada penelitian ini digunakan seri tabung 5–1–1 yaitu 5 tabung *triple strength* 10 ml, 1 tabung *single strength* 1 ml dan 1 tabung *single strength* 0,1 ml, dikarenakan sampel yang akan diperiksa merupakan sampel yang sudah diolah dan diperkirakan jumlah kumannya sedikit.

Tahap setelah penentuan pada media BGLB adalah tahap kesempurnaan, berupa penanaman koloni dari media BGLB yang positif gas ke dalam sederet media gula-gula, media TSIA, SIM, SC, dan MC agar. Penanaman pada media-media tersebut berfungsi sebagai identifikasi dari bakteri *E. coli*.

Dari hasil penelitian seperti yang tertera pada tabel IX, diketahui bahwa sampel yang diperiksa pada hari ke-nol (belum mengalami penyimpanan) tidak dijumpai adanya kontaminasi dari bakteri *E. coli*. Setelah mengalami penyimpanan waktu 2 dan 4 hari sampel tersebut mengandung bakteri *E. coli* tetapi masih dalam jumlah yang diperbolehkan. Sedangkan pada hari keenam jumlah bakteri *E. coli* nya mengalami kenaikan yang menurut persyaratan sudah tidak diperbolehkan lagi untuk dikonsumsi. Susu yang baik adalah susu yang tidak mengandung bakteri *E. coli* lebih dari 10 kolon per ml.

Ada tidaknya pertumbuhan bakteri *E. coli* sangat besar pengaruhnya terhadap kualitas makanan atau minuman yang dikonsumsi oleh manusia. Sebagai contoh, kualitas air minum secara bakteriologis tingkatannya ditentukan oleh

kehadiran bakteri tersebut seperti terlihat pada tabel VII. Dalam sediaan susu pasteurisasi adanya bakteri coliformis memberikan gambaran mengenai mutu susu, sanitasi pemerahan, pengangkutan dan proses-proses lain, kesehatan dan kebersihan ambing hewan, juga menjadi tanda penanganan yang tidak bersih setelah proses pasteurisasi. (Suriawiria, 1965).

Tabel VII. Kualitas air berdasarkan pertumbuhan bakteri *E. coli* per 100 ml

Kualitas air	Jumlah bakteri *E. coli* per 100 ml
Sangat memuaskan	Kurang dari 1 (tidak ada)
Memuaskan	1 – 2
Diragukan	3 – 10
Jelek	Lebih dari 10

Untuk hasil uji pendahuluan dan penegasan pada MPN ini dapat dilihat pada tabel VIII.

Tabel VIII. Hasil Uji Perkiraan dan Penegasan Bakteri *E. coli*

PERLAKUAN PENYIMPANAN	SERI PENGENCERAN	SAMPEL I			SAMPEL II			SAMPEL III		
		TES PERKIRAAN	TES PENEGASAN	INDEKS MPN E. COLI	TES PERKIRAAN	TES PENEGASAN	INDEKS MPN E. COLI	TES PERKIRAAN	TES PENEGASAN	INDEKS MPN E. COLI
0 hari	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	0 0 0	0	5 1 1	0 0 0	0	5 1 1	0 0 0	0
	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	0 0 0	0	5 1 1	0 0 0	0	5 1 1	0 0 0	0
	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	0 0 0	0	5 1 1	0 0 0	0	5 1 1	0 0 0	0
	$\bar{X} \pm SD$			0			0			0
2 hari	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	1 1 0	4,4	5 0 0	2 0 0	5	5 1 1	1 1 0	4,4
	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	1 1 0	4,4	5 1 0	1 1 0	4,4	5 1 1	1 0 1	4,4
	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	1 0 1	4,4	5 0 0	2 0 0	5	5 1 1	1 1 0	4,4
	$\bar{X} \pm SD$			4,4 ± 0			4,8 ± 0,38			4,4 ± 0
4 hari	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	2 0 1	7,5	5 1 1	2 0 1	7,5	5 1 1	3 0 0	8,8
	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	2 1 0	7,6	5 1 1	2 1 1	10	5 1 1	2 1 0	7,6
	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 1	2 0 1	7,5	5 1 1	2 1 0	7,6	5 1 1	2 1 0	7,6
	$\bar{X} \pm SD$			7,53 ± 0,006			8,37 ± 1,42			8 ± 0,69
6 hari	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 0	3 1 0	12	5 0 0	5 0 0	38	5 0 0	4 0 0	15
	10^1 10^0 10^{-1}	5 0 0	4 0 0	15	5 0 0	4 0 0	15	5 0 0	3 0 0	8,8
	10^1 10^0 10^{-1}	5 1 0	3 1 0	12	5 0 0	4 0 0	15	5 0 0	4 0 0	15
	$\bar{X} \pm SD$			13 ± 1,73			22,67 ± 13,28			12,93 ± 3,58

Keterangan :
Seri pengenceran 10^1, 10^0, 10^{-1} diambil dari 3 pengenceran terakhir.
Tes perkiraan : penanaman pada media *Lactose Broth*
Tes penegasan : penanaman pada media *BGLB*
I, II, III : sampel

Tabel IX. Rata–rata Perhitungan MPN *E. coli*

Perlakuan penyimpanan	Index MPN *E. coli*			$\bar{X}$	SD
	I	II	III		
0 hari	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2 hari	4,40	4,80	4,40	4,53	0,23
4 hari	7,53	8,37	8,00	7,97	0,42
6 hari	13,00	22,67	12,93	16,20	5,60

Hasil analisis statistik dengan uji korelasi menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat erat antara MPN *E. coli* dengan waktu penyimpanan. Semakin lama waktu penyimpanan maka index MPN *E. coli* nya juga semakin tinggi. Untuk selengkapnya uji korelasi ini dapat dilihat pada lampiran 1.

C. Uji Reduktase

Salah satu pengujian mutu air susu adalah dengan uji reduktase. Uji ini biasa disebut dengan uji methylen blue karena pereaksi yang digunakan adalah methylen blue. Uji ini didasarkan pada kemampuan bakteri di dalam susu untuk tumbuh dan menggunakan oksigen yang terlarut, sehingga menyebabkan penurunan kekuatan oksidasi–reduksi dari campuran tersebut, akibatnya methylen blue yang ditambahkan akan tereduksi menjadi methylen white. Waktu reduksi yaitu waktu yang diperlukan untuk terjadinya perubahan warna biru menjadi putih. Perubahan warna biru menjadi putih dianggap selesai jika kira–kira empat perlima bagian dari contoh susu yang terdapat di dalam tabung, yaitu sebanyak 10 ml telah berwarna putih. Air susu dengan derajad terbaik tidak akan mereduksi methylen blue menjadi senyawa yang tidak berwarna dalam waktu 5,5 jam,

sedangkan air susu yang jelek mungkin menyelesaikannya dalam waktu kurang dari 2 jam.

Semakin tinggi jumlah bakteri dalam susu maka semakin cepat bakteri mereduksi larutan biru methylen, sehingga angka reduktasenya semakin kecil. Dari hasil pengujian diketahui bahwa sampel yang mempunyai angka reduksi terendah adalah sampel yang diperiksa pada hari keenam dengan angka reduktase 4,03 jam. Sedangkan angka reduktase tertinggi terdapat pada sampel hari ke-nol dengan angka reduktase sebesar 7,71 jam. Hal ini menunjukkan bahwa sampel yang diperiksa berupa susu pasteurisasi masih dalam keadaan baik, tetapi pada hari keenam menunjukkan bahwa sampel tersebut sudah mengalami kerusakan, karena jumlah bakteri pada hari keenam sangat tinggi dan juga angka reduktasenya sudah menurun. Selengkapnya hasil angka reduktase masing-masing sampel dapat dilihat pada tabel X.

Tabel X. Hasil Pengamatan Angka Reduktase

Perlakuan penyimpanan	Sampel			$\bar{X}$	SD
	I	II	III		
0 hari	7,74	7,75	7,65	7,71	0,06
2 hari	6,88	7,04	7,08	7,00	0,11
4 hari	5,97	5,73	5,74	5,81	0,14
6 hari	4,05	4,07	3,97	4,03	0,05

D. Uji Sifat Kimiawi Susu

Uji ini terdiri dari pemeriksaan pH dan uji kadar asam susu. pH susu normal terletak antara 6,5–6,7, hal ini dikarenakan susu mengandung sistim penyangga yang terdiri dari garam–garam sitrat, fosfat dan bikarbonat. Pada

pemeriksaan sampel susu pasteurisasi hari ke–nol dan kedua didapatkan pH 6,5 sedangkan pada pemeriksaan hari keempat dan keenam pH susu berubah menjadi 6. Hal ini menunjukkan bahwa susu tersebut sudah mengalami perubahan menjadi asam.

Untuk pemeriksaan uji kadar asam ditentukan dengan titrasi menggunakan larutan alkali (NaOH 0,01 N) dan indikator phenolphtalein. Uji ini disebut dengan "*Manns' Acid Test*", dasarnya adalah menetralkan keasaman susu dengan alkali. Rata–rata keasaman susu hanya 0,17 %. Keasamannya yang kecil ini disebabkan karena sifat susu yang hanya mempunyai pH sekitar 6,5–6,7. Kadar asam susu dari sampel susu pasteurisasi yang diperiksa dari hari ke–nol sampai hari keenam didapatkan hasil yaitu antara 0,16 %-0,23%. Hal ini menunjukkan juga bahwa semakin lama waktu penyimpanan susu maka kadar asamnya juga semakin tinggi. Adanya asam dalam susu ini disebabkan oleh aktivitas bakteri–bakteri pembentuk asam. Bakteri tersebut dapat merubah gula (laktosa) menjadi asam laktat. Selain itu keasaman susu dapat disebabkan oleh beberapa hal yaitu adanya phosphat, asam sitrat, sifat kasein dan albumin dan terlarutnya CO_2 dalam susu.

Selengkapnya hasil pemeriksaan pH dan kadar asam susu dapat dilihat pada tabel XI dan tabel XII.

Tabel XI. Hasil Pemeriksaan pH

Sampel	pH pada perlakuan penyimpanan			
	0 hari	2 hari	4 hari	6 hari
I	6,5	6,5	6	6
II	6,5	6,5	6	6
III	6,5	6,5	6	6
$\bar{X}$	6,5	6,5	6	6
SD	0	0	0	0

Tabel XII. Hasil Pemeriksaan Kadar Asam Susu

Sampel	Kadar Asam pada Perlakuan Penyimpanan (%)			
	0 hari	2 hari	4 hari	6 hari
I	0,16	0,17	0,20	0,23
II	0,16	0,18	0,20	0,23
III	0,16	0,17	0,21	0,23
$\bar{X}$	0,16	0,17	0,20	0,23
SD	0,00	0,0058	0,0058	0,00

E. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *P. aeruginosa*

Isolasi bakteri dilakukan dengan menanam sampel pada media *BHI broth*, diinkubasi selama 24 jam pada 37°C. *BHI broth* merupakan perbenihan yang digunakan untuk memperbanyak bakteri karena perbenihan ini dapat ditumbuhi oleh hampir semua jenis bakteri. Kemudian dari *BHI Broth* ditanam lagi ke media agar darah (*Blood Plate agar*) dan media *MC agar*, diinkubasi selama 24 jam 37°C dengan tujuan untuk memisahan koloni bakteri. Hasil dari penanaman pada media agar darah dan media *MC agar* dilakukan pengecatan Gram.

Setelah dilakukan pengecatan kemudian ditanam pada media deret untuk uji biokimia. Uji biokimia ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang merupakan kelompok dari bakteri Gram negatif (-). Media deret yang digunakan adalah media gula–gula, media *TSIA*, *SIM* dan *SC*. Penanaman pada media gula-gula ini untuk mengetahui apakah bakteri yang ditanam dapat meragikan gula-gula (glukosa, laktosa, mannitol, maltosa dan sakarosa) atau tidak.

Media *TSIA* berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri tersebut dapat bereaksi menghasilkan asam, gas atau hanya basa saja, selain itu juga dapat untuk

melihat peragian gula dari bakteri. Pada uji *TSIA* ada dua macam peragian yaitu peragian gula secara aerobik yaitu pada lereng (slant) dan peragian gula secara anaerobik yaitu pada tusukan (butt).

Sedangkan peragian yang terjadi setelah inkubasi akan menunjukkan :

1. Hanya meragi glukosa, maka lereng bersifat basa/merah dan pada tusukan bersifat asam/kuning.
2. Meragi glukosa dan laktosa, maka baik lereng maupun tusukan bersifat asam/kuning.
3. Tidak meragi glukosa dan laktosa, maka lereng maupun tusukan bersifat basa/merah.

Media *Simmon's Citrate Agar* berfungsi untuk mengetahui apakah bakteri dapat menggunakan citrate atau tidak sebagai sumber karbon dan sumber nitrogen, yang ditandai dengan perubahan warna biru bila terjadi suasana basa pada media. Media *SIM* berfungsi untuk mempelajari apakah bakteri yang ditanam mempunyai kemampuan membentuk H_2S atau tidak, juga untuk mengetahui pergerakan bakteri dan kemampuan bakteri menghasilkan indol. Dari identifikasi yang dilakukan didapatkan bakteri *P. aeruginosa.* Adanya pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* dalam sampel mengakibatkan susu menjadi rusak, karena *P. aeruginosa* merupakan salah satu jenis bakteri yang sering menimbulkan kebusukan makanan. Kemampuan *P. aeruginosa* dalam hal membusukkan makanan didukung oleh sifat bakteri tersebut, diantaranya yaitu : dapat menggunakan senyawa sumber nitrogen sederhana, memproduksi senyawa yang menimbulkan bau busuk, dapat mensintesis faktor-faktor pertumbuhan dan

vitamin, beberapa spesies bersifat proteolitik dan lipolitik serta pektinolitik, pertumbuhan pada kondisi aerobik berjalan cepat dan biasanya membentuk lendir. Hasil isolasi dan identifikasi bakteri dapat dilihat selengkapnya pada tabel XIII.

Tabel XIII. Hasil Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*

No	Uji	Hasil	Jenis bakteri
1.	Isolasi pada media BP	Koloni sedang, abu-abu, halus, keping, anhaemolytis.	*Eschericia coli*
	Isolasi pada media MC	Koloni sedang, merah tua, metallic, halus, cembung.	
	Cat Gram	Gram (-), batang lurus.	
	Fermentasi glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, sakarosa	Positif (gas)	
	TSIA : Lereng Dasar Gas	Berwarna kuning Berwarna kuning Positif	
	SIM : H_2S Indol Motility	Negatif Positif Aktif	
	Simmon's citrate	Negatif	
	Methyl red	Positif	
	Voges Proskauner	Negatif	
	Catalase test	Positif	
	Oxidase test	Negatif	
2.	Isolasi pada media BP	Koloni besar-besar, putih abu-abu, halus, keping, haemolytis, agak berkabut	*Pseudomonas aeruginosa*
	Isolasi pada media MC	Koloni sedang, jernih, halus, keping, tepinya tidak rata.	
	Cat Gram	Gram (-), batang lurus dan bengkok, tidak berspora.	
	Nutrient agar	Tumbuh, memproduksi pigmen hijau-biru.	
	Fermentasi glukosa, laktosa, mannitol, maltosa, sakarosa	Negatif	
	TSIA : Lereng Dasar Gas	Berwarna merah Berwarna merah Negatif	
	SIM : H_2S Indol Motility	Negatif Negatif Negatif	
	Simmon's citrate	Positif	
	Catalase test	Positif	
	Oxidase test	Positif	

Keterangan :
BP agar = *Blood Plate agar*
MC agar = *Mac Conkey agar*
TSIA = *Triple Sugar Iron Agar*
SIM agar = *Sulfida Indol Motility*
SC agar = *Simmon's Citrate agar*
MR–VP = *Methyl Red–Voges Proskauer*

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil analisis data penelitian mengenai pengujian mikrobiologi mutu susu pasteurisasi dengan identifikasi bakterinya, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pada produk susu pasteurisasi yang diperiksa angka kuman totalnya sampai pada hari keempat masih memenuhi syarat mutu susu yang ditetapkan, sedangkan pada hari keenam sudah tidak memenuhi syarat mutu susu pasteurisasi. Jumlah kuman pada hari ke–nol = $3,15 \times 10^4$ CFU/ml ; hari kedua = $5,77 \times 10^4$ CFU/ml ; hari keempat = $8,26 \times 10^4$ CFU/ml ; dan hari keenam = $3,67 \times 10^5$ CFU/ml. Jumlah angka kuman total yang ditetapkan untuk susu pasteurisasi adalah $1,0 \times 10^5$ CFU/ml.
2. Pada perhitungan kuman dengan metode MPN *E. coli* didapatkan jumlah bakteri *E. coli* (permililiter) yaitu pada hari ke–nol = 0 ; hari kedua = 4,53; hari keempat = 7,97 dan hari keenam = 16,2. Dari hasil tersebut maka susu pasteurisasi sampai pada hari keempat masih memenuhi syarat mutu susu, sedangkan pada hari keenam sudah tidak memenuhi syarat mutu susu lagi karena susu yang masih baik adalah susu yang mengandung bakteri *E. coli* kurang dari 10 bakteri kolon/mililiternya.
3. Dari pengujian sifat kimiawi susu diperoleh hasil untuk angka reduktase tertinggi yaitu pada hari ke-nol sebesar 7,71 jam, sedangkan yang terendah

pada hari keenam yaitu 4,03 jam. Untuk pemeriksaan pH didapatkan rentang pH antara 6-6,5, dan pemeriksaan kadar asamnya menunjukkan peningkatan kadar yaitu dari 0,17%-0,22%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin lama penyimpanan, sampel yang diperiksa mengalami penurunan kualitas.

4. Hasil isolasi dan identifikasi yang didasarkan pada pengujian morfologi, sifat Gram, uji biokimiawi serta uji kimiawi menunjukkan bahwa dalam sampel susu pasteurisasi yang diperiksa terdapat bakteri *E. coli* dan bakteri *P. aeruginosa*.

B. Saran

1. Bagi industri yang memproduksi susu pasteurisasi diharapkan lebih meningkatkan teknik pengolahannya.
2. Diharapkan kepada konsumen agar memperhatikan cara penyimpanan susu pasteurisasi untuk keamanan pengkonsumsian.
3. Perlunya penelitian lebih lanjut tentang pemeriksaan mutu susu pasteurisasi yang dapat dilakukan dengan pemeriksaan bobot jenis, angka refraksi dan kadar lemak susu, serta analisa identifikasi bakteri keseluruhan yang terdapat di dalam susu.

DAFTAR PUSTAKA

Adnan. M, 1994, ***Kimia dan Teknologi Pengolahan Susu***, Andi Offset Press, Jogjakarta.

Agus. K.B. Moch, 2002, ***Mikrobiologi Terapan***, Universitas Muhammaddiyah Malang Press.

Anonim, 1993, ***Dasar–Dasar Pemeriksaan Mikrobiologi***, Fakultas Kedokteran, UGM, Jogjakarta.

Anonim, 1989, ***Batas Maksimum Cemaran Mikroba Makanan***, Direktur Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, No. 0376/B/SK/VII/89.

Anonim, 1989, ***Bakteriologi Klinik***, Pusat Pendidikan Tenaga Kesehatan Depkes RI, Jakarta.

BS. A. J. Salle, Edisi 5, 1961, ***Fundamental Principle of Bacteriology***, University of California, Los Angeles.

D. Dwijoseputro, 1981, ***Dasar–Dasar Mikrobiologi***, Djambatan Press, Surabaya.

Day, R.A, Jr & Underwood A.L, 1986, ***Analisis Kimia Kuantitatif***, Edisi Kelima, Penerbit Erlangga, Jakarta.

Fardiaz Srikandi, 1983, ***Keamanan Pangan***, Jurusan Ilmu & Teknologi Pangan, FATETA, IPB, Bogor.

Fardiaz Srikandi, 1993, ***Analisis Mikrobiologi Pangan***, Rajawali Press.

Hadiwiyoto, S, 1994, ***Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan hasil Olahannya***, Liberty Press, Yogyakarta.

Ismadi. M, 1987, ***Petunjuk Laboratorium Pemeriksaan Hasil-hasil Perusahaan Air Susu***, Pusat Antar Universitas Pangan & Gizi, Universitas Gajah Mada Jogjakarta.

Jawetz, Melnick, & Adelberg's, 2001, ***Mikrobiologi Kedokteran***, Penerbit Salemba Merdeka, Jakarta.

Lay. Bibiana. W, 1994, ***Analisis Mikrobia di Laboratorium***, Raja Gavindo, Jakarta.

Pelczar dan Chan, 1988, ***Dasar–Dasar Mikrobiologi***, UI Press, Jakarta.

Suriawiria, U, 1985, ***Pengantar Mikrobiologi Umum***, Penerbit Angkasa, Bandung.

Soemarno, 1987, ***Penuntun Praktikum Bakteriologi***, C.V. Karyono, Yogyakarta.

Soemarno, 2000, ***Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik***, Akademi Analis Kesehatan, Depkes RI, Jogjakarta.

S. Sinduredjo, 1960, ***Pedoman Perusahaan Pemerahan Air Susu***, Direktorat Pengembangan Produksi Peternakan, Direktorat Jendral Pertanian, Jakarta.

Sujono, 1996, ***Kimia Analisa***, Sekolah Menengah Analis Kesehatan Depkes RI, Jogjakarta.

Trihendrokesowo, 1989, ***Kursus Singkat Fisiologi Bakteri***, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Universitas Gajah Mada, Jogjakarta.

Volk and Wheleer, 1989, ***Mikrobiologi Dasar***, Edisi 5, Jilid 2, Penerbit Erlangga, Jakarta.

Winarno F. G & Laksmi, S, 1983, ***Kerusakan Bahan Pangan dan Cara Pencegahannya***, Kerjasama dengan Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Pangan IPB, Ghana Indonesia Press, Bogor.

Wheeler, F. M, 1990, ***Mikrobiologi Dasar***, Edisi 5, Penerbit Erlangga, Jakarta.

Lampiran 1. Data dan analisis korelasi bivariate

Data Angka Kuman Total dan MPN *E. coli*

No	Waktu penyimpanan	Angka kuman total	MPN *E. coli*
1	0	30500	0,00
2	0	33400	0,00
3	0	30600	0,00
4	2	55400	4,40
5	2	56900	4,80
6	2	60900	4,40
7	4	79600	7,53
8	4	84300	8,37
9	4	83900	8,00
10	6	352000	13,00
11	6	383000	22,67
12	6	367000	12,93

Uji statistik korelasi bivariate

Correlations

Descriptive Statistics

	Mean	Std. Deviation	N
waktu penyimpanan	3,0000	2,3355	12
angka kuman total	134791,7	141657,7467	12
MPN Coliform	7,1750	6,6392	12

Correlations

		waktu penyimpanan	angka kuman total	MPN Coliform
waktu penyimpanan	Pearson Correlation	1,000	,851**	,915**
	Sig. (2-tailed)	.	,000	,000
	Sum of Squares and Cross-products	60,000	3097100,000	156,100
	Covariance	5,455	281554,545	14,191
	N	12	12	12
angka kuman total	Pearson Correlation	,851**	1,000	,885**
	Sig. (2-tailed)	,000	.	,000
	Sum of Squares and Cross-products	3097100,000	2,207E+11	9159376,500
	Covariance	281554,545	2,007E+10	832670,591
	N	12	12	12
MPN Coliform	Pearson Correlation	,915**	,885**	1,000
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	.
	Sum of Squares and Cross-products	156,100	9159376,500	484,864
	Covariance	14,191	832670,591	44,079
	N	12	12	12

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Nonparametric Correlations

Correlations

			waktu penyimpanan	angka kuman total	MPN Coliform
Kendall's tau_b	waktu penyimpanan	Correlation Coefficien	1,000	,905**	,933**
		Sig. (2-tailed)	.	,000	,000
		N	12	12	12
	angka kuman total	Correlation Coefficien	,905**	1,000	,907**
		Sig. (2-tailed)	,000	.	,000
		N	12	12	12
	MPN Coliform	Correlation Coefficien	,933**	,907**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	.
		N	12	12	12
Spearman's rho	waktu penyimpanan	Correlation Coefficien	1,000	,972**	,980**
		Sig. (2-tailed)	.	,000	,000
		N	12	12	12
	angka kuman total	Correlation Coefficien	,972**	1,000	,974**
		Sig. (2-tailed)	,000	.	,000
		N	12	12	12
	MPN Coliform	Correlation Coefficien	,980**	,974**	1,000
		Sig. (2-tailed)	,000	,000	.
		N	12	12	12

**. Correlation is significant at the .01 level (2-tailed).

Lampiran 2. Komposisi nutrisi yang terdapat pada air susu pasteurisasi

Protein	2,10
Lemak	2,80
Laktosa	9,20
Mineral	0,20

Lampiran 3. Keputusan Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan

No : 03726 / B / SK / VII / 89

Tentang : Batasan maksimum cemaran mikroba pada air susu pasteurisasi

Batasan Pada	**Jumlah**
Angka lempeng total	10^5
MPN *Coliform*	10
Enterococci	10^2
Salmonella	(-)
Staphylococcus aureus	10^2

Keterangan :

(-) : negatif

Kandungan bakteri coliform tidak lebih dari 10 bakteri kolon per mililiternya.

Lampiran 4. Pembuatan dan komposisi media yang digunakan

A. Pembuatan media pertumbuhan :

1. *Media Lactose Broth*, caranya :

a. *Triple strength* :

Ditimbang dengan teliti Nutrient broth 12,0 gram ; NaCl 7,5 gram ; Lactosa 15 gram. Ketiga bahan dilarutkan dengan aquades sampai 500 ml.

Kemudian dipanaskan pelan–pelan diatas penangas air sambil diaduk sampai semua bahan larut.

pH diatur sehingga didapatkan pH 6,8–7,0. kemudian bagi ke dalam tabung–tabung yang sudah diberi tabung Durham sebanyak 10 ml.

Sterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.

b. *Single strength* :

Ditimbang dengan teliti Nutrient broth 4,0 gram ; NaCl 2,5 gram ; Lactosa 5 gram. Ketiga bahan dilarutkan dengan aquades sampai 500 ml.

Kemudian dipanaskan pelan–pelan diatas penangas air sambil diaduk sampai semua bahan larut.

pH diatur sehingga didapatkan pH 6,8–7,0. kemudian bagi ke dalam tabung–tabung yang sudah diberi tabung Durham sebanyak 10 ml.

Sterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit.

2. Media *Brilliant Green Lactosa Broth (BGLB)* :
   a. Ditimbang 40 gram media BGLB, dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan pelan–pelan diatas water bath.
   b. Bagi ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi tabung Durham sebanyak @ 10 ml. Kemudian disterilisasi menggunakan autoclave 121°C selama 15 menit.
3. Media *Mueller Hinton Agar* :
   a. Ditimbang 30 gram media MH agar, dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan pelan–pelan diatas water bath.
   b. Sterilisasi menggunakan autoclave 121° C selama 15 menit.
4. Media *Pepton* :
   a. Ditimbang 5 gram Bacto pepton dan 2,5 gram NaCl, keduanya dilarutkan dalam 500 ml aquades.
   b. Diatur pH nya sehingga didapatkan pH 7,2.
   c. Sterilisasi menggunakan autoclave 121° C selama 15 menit.
5. Media *Gula–Gula (Glukosa, Laktosa, Manitol, Maltosa, Sakarosa)* :
   Ditimbang 1 gram media gula–gula, dilarutkan dalam 100 ml pepton, ditambah phenol red 1 ml sebagai pewarna.
6. Media *Triple Sugar Iron Agar (TSIA)* :
   a. Ditimbang 65 gram Media TSIA, dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan pelan–pelan diatas water bath.
   b. Sterilisasi menggunakan autoclave 121° C selama 15 menit.

7. Media *Sulfida Indol Motility (SIM)* :
   a. Ditimbang 30 gram Media SIM, dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan pelan–pelan diatas water bath.
   b. Sterilisasi menggunakan autoclave 121° C selama 15 menit.
8. Media *Simmons Citrate Agar (SC)* :
   a. Ditimbang 23 gram Media SC, dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan pelan–pelan diatas water bath.
   b. Sterilisasi menggunakan autoclave 121° C selama 15 menit
9. Media *Mac Conkey Agar (MC)* :
   a. Ditimbang 50 gram Media MC, dilarutkan dalam 1 liter aquades, dipanaskan pelan–pelan diatas water bath.
   b. Sterilisasi menggunakan autoclave 121° C selama 15 menit.

B. Komposisi media (OXOID) :

1. Media *Triple Sugar Iron agar (TSIA)* :

Typical formula (g/l):

- Lab–Lem co' Powder	3,0	- Sucrose	10,0
- Yeast extract	3,0	- Glukose	1,0
- Peptone	3,0	- Ferric citrate	0,3
- Sodium chloride	5,0	- Sodium Thiosulphate	0,3
- Lactosa	10,0	- Phenol red q.s	
- Agar 12,0			

pH 7,4 ± 0,2

2. Media *Sulfida Indol Motility (SIM)* :

   Formula (g/l) :

   - Tryptone 20,0
   - Peptone 6,1
   - Ferrous ammonium sulphate 0,2
   - Sodium thiosulphate 0,2
   - Agar 3,5

   pH 7,3 ± 0,2

3. Media *Mueller–Hinton Agar*

   Formula (g/l) :

   - Beef, dehydrated infusion from 300,0
   - Casein hydrolysate 17,5
   - Starch 1,5
   - Agar 17,0

   pH 7,4 ± 0,2

4. Media *Simmons Citrate agar*

   Formula (g/l) :

   - Magnesium sulphate 0,2
   - Ammonium dihydrogen phosphate 0,2
   - Sodium ammonium phosphate 0,8
   - Sodium citrate, tribasic 2,0
   - Sodium chloride 5,0
   - Bromothymol blue 0,08

- Agar 15,0

  pH 7,0 ± 0,2

5. Media *Mac-Conkey agar*

   Formula (g/l) :

   - Peptone from casein 17,0
   - Peptone from meat 3,0
   - Sodium chloride 5,0
   - Lactose 10,0
   - Bile salt mixture 1,5
   - Natural red 0,03
   - Crystal violet 0,001
   - Agar–agar 13,5

     pH 7,1 ± 0,2 at 25°C

6. Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) :*

   Formula (g/l) :

   - Peptone 10,0
   - Lactose 10,0
   - Ox–Bile purified 20,0
   - Brilliant Green 0,0133

     pH 7,4 ± 0,2

C. Reagen yang digunakan :

1. Reagen *Kovacs* :

Paradimethylaminobenzaldehid	5,0 g
Butanol	75,0 ml
HCl pekat	250,0 ml

2. Reagen *Methyl Red (MR)* :

Merah metil	0,2 g
Etanol 95 %	600,0 ml
Aquadestilata	400,0 ml

3. Reagen *Voges Proskauer (VP)* :

Alpha–naphtol :

Alpha–naphtol	5,0 g
Etanol 95 %	100,0 ml

KOH 40 % :

KOH	40,0 g
Aquadestilata	100,0 ml

Lampiran 5. Uji–uji kimia pada identifikasi bakteri

A. Katalase test

1. Teteskan 1 tetes H_2O_2 10 % pada kaca obyek.
2. Tambahkan koloni bakteri yang akan diperiksa secukupnya, campur baik-baik.
3. Perhatikan ada tidaknya pembentukan gelembung udara.

Pembacaan :

1. Katalase tes positif : ada gelembung udara
2. Katalase tes negatif : tidak ada gelembung udara

Kontrol test :

1. Katalase tes positif : *Staphylococcus*
2. Katalase tes negatif : *Streptococcus*

B. Oxidase test

Koloni bakteri yang diperiksa dipulaskan pada kertas saring yang sudah dibasahi dengan reagen oxidase (larutan 1 % tetra methyl para phenylen diamin dihydrochloride di dalam aquades).

Pembacaan :

1. Oxidase tes positif : apabila koloni/reagennya berubah warnanya menjadi merah muda–hitam
2. Oxidase tes negatif : apabila koloni/reagennya tidak berubah warna

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA PERPUSTAKAAN

Kontrol tes :

1. Oxidase tes positif : *Pseudomonas*
2. Oxidase tes negatif : *Staphylococcus*

C. Indol tes :

1. Bakteri yang akan diperiksa ditanam didalam media air pepton atau media SIM.
2. inkubasikan 37°C 24 jam.
3. Teteskan pelan–pelan reagen Kovacs pada media yang sudah ditanami bakteri tersebut sehingga terjadi garis pemisah antara media dan reagen.

Pembacaan :

1. Indol tes positif : terjadi cincin merah pada garis pemisah.
2. Indol tes negatif : tidak terjadi cincin merah pada garis pemisah.

D. Voges Proskauer tes

1. Bakteri yang akan diperiksa ditanam pada media MR–VP dalam bentuk suspensi.
2. Inkubasikan 37°C selama 24 jam.
3. Tambahkan reagen VP.1 sebanyak 0,5 volume cultur dan reagen VP.2 sebanyak 0,5 volume cultur.
4. Kocok baik–baik, tunggu 10–30 menit.

Pembacaan ;

1. Voges proskauer positif : terjadi warna merah
2. Voges proskauer negatif : terjadi warna kuning

E. Methyl Red Test :

1. Bakteri yang akan diperiksa ditanam pada media MR–VP dalam bentuk suspensi.
2. Inkubasikan 37°C selama 24 jam.
3. Tambahkan 5 tetes reagen MR kepada 5 ml cultur tersebut.
4. Kocok baik–baik, tunggu 10–30 menit.

Pembacaan :

1. MR tes positif : terjadi warna merah
2. MR tes negatif : terjadi warna kuning

Lampiran 6. Cara perhitungan kadar asam pada susu

Diketahui :

Bobot Ekivalen (BE) : NaOH = 40

$KHC_8H_4O_4$ (KHP) = 204,23

1. Membuat larutan NaOH 0,01 N sebanyak 100 ml

$$N = \frac{g}{BExVolume\ (L)}$$

NaOH yang ditimbang adalah (g) = N x BE x Volume

= 0,01 x 40 x 0,1

= 0,04 gram

2. Standarisasi larutan NaOH 0,01 N menggunakan larutan Kalium hydrogen Ptalat (KHP).

a. Membuat larutan KHP 0,01 N sebanyak 100 ml.

KHP yang ditimbang (g) = N x BE x V (L)

= 0,01 x 204,23 x 0,1

= 0,2042 gram

b. Mencari Normalitas NaOH sebenarnya :

Volume larutan KHP yang dipipet = 25,00 ml

Pengenceran = $\frac{100ml}{25{,}00ml}$ = 4 x

Penimbangan KHP sebenarnya = 0,2040 g = 204,00 mg

Penimbangan KHP untuk perhitungan N NaOH = $\frac{204{,}00mg}{4}$ = 51,00 mg

Volume titrasi NaOH = 1) 28,00 ml

2) 28,05 ml

3) 28,10 ml

N NaOH sebenarnya :

mek KHP = mek NaOH

$$\frac{mg}{BE(mg/mek)} = \text{V (ml) x N NaOH}$$

1) $\frac{51{,}00mg}{204{,}23mg/mek} = 28{,}00 \text{ x N NaOH}$

$$\text{N NaOH} = \frac{51{,}00mg}{204{,}23mg/mekx28{,}00ml} = 0{,}0089 \text{ mek/ml}$$

2) $\frac{51{,}00mg}{204{,}23mg/mek} = 28{,}05 \text{ x N NaOH}$

$$\text{N NaOH} = \frac{51{,}00mg}{204{,}23mg/mekx28{,}05ml} = 0{,}0089 \text{ mek/ml}$$

3) $\frac{51{,}00mg}{204{,}23mg/mek} = 28{,}10 \text{ x N NaOH}$

$$\text{N NaOH} = \frac{51{,}00mg}{204{,}23mg/mekx28{,}10ml} = 0{,}0089 \text{ mek/ml}$$

$$\text{Rata-rata Normalitas NaOH} = \frac{0{,}0089 + 0{,}0089 + 0{,}0089}{3} = 0{,}0089 \text{ N}$$

3. Perhitungan kadar asam susu.

$$\text{Kadar asam susu (\%)} = \frac{mlNaOHxVNaOHx100\%}{beratsusu(18gram)}$$

Tabel XIII. Volume titrasi asam dengan NaOH

Perlakuan penyimpanan	Sampel	Replikasi titrasi (ml)		
		1	2	3
0 hari	I	3,20	3,30	3,35
	II	3,30	3,35	3,30
	III	3,30	3,25	3,30
2 hari	I	3,50	3,55	3,40
	II	3,55	3,60	3,50
	III	3,50	3,55	3,45
4 hari	I	4,00	4,10	4,15
	II	4,00	4,00	4,10
	III	4,10	4,15	4,20
6 hari	I	4,80	4,75	4,70
	II	4,80	4,70	4,60
	III	4,70	4,65	4,80

Tabel XIV. Kadar asam susu (%)

Perlakuan Penyimpanan	Sampel	Kadar asam (%)			$\bar{X}$	SD
		1	2	3		
0 hari	I	0,16	0,16	0,17	0,16	$5,77 \times 10^{-3}$
	II	0,16	0,17	0,16	0,16	$5,77 \times 10^{-3}$
	III	0,16	0,16	0,16	0,16	0,00
2 hari	I	0,17	0,18	0,17	0,17	$5,77 \times 10^{-3}$
	II	0,18	0,19	0,17	0,18	0,01
	III	0,17	0,18	0,17	0,17	$5,77 \times 10^{-3}$
4 hari	I	0,20	0,20	0,21	0,20	$5,77 \times 10^{-3}$
	II	0,20	0,20	0,20	0,20	0,00
	III	0,20	0,21	0,21	0,21	$5,77 \times 10^{-3}$
6 hari	I	0,24	0,23	0,23	0,23	$5,77 \times 10^{-3}$
	II	0,24	0,23	0,23	0,23	$5,77 \times 10^{-3}$
	III	0,23	0,23	0,24	0,23	$5,77 \times 10^{-3}$

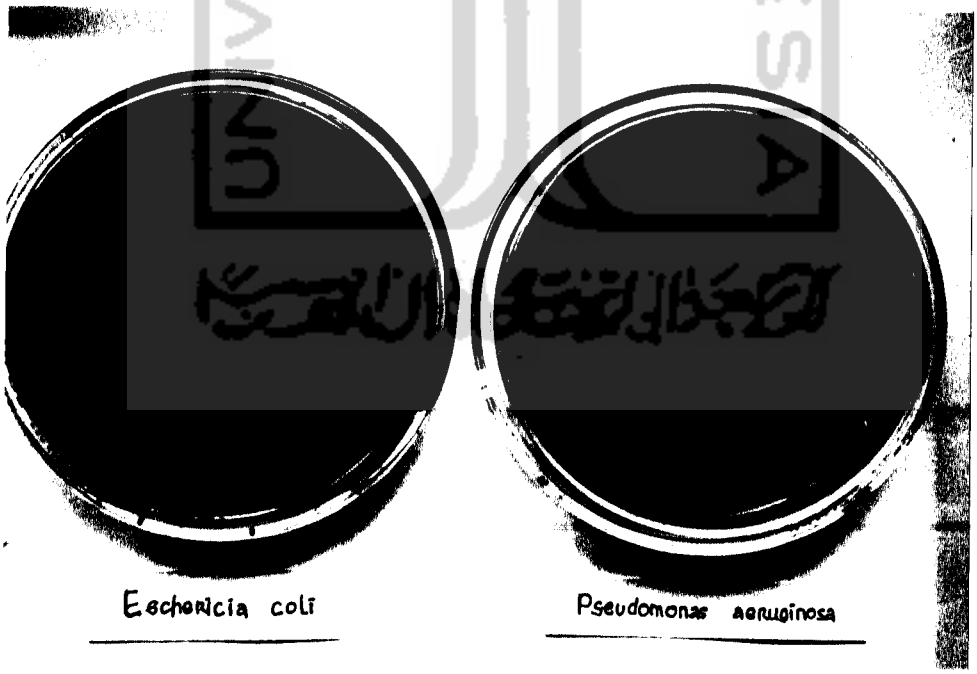
Lampiran 7. **Tabel Index MPN E. coli** :

Jumlah Tabung (+) Gas			Index MPN per 100 ml
10 ml	1 ml	0,1 ml	
0	0	1	2
0	1	0	2
0	1	1	4
1	0	0	2,2
1	0	1	4,4
1	1	0	4,4
1	1	1	6,7
2	0	0	5
2	0	1	7,5
2	1	0	7,6
2	1	1	10
3	0	0	8,8
3	0	1	12
3	1	0	12
3	1	1	16
4	0	0	15
4	0	1	20
4	1	0	21
4	1	1	27
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	1	240

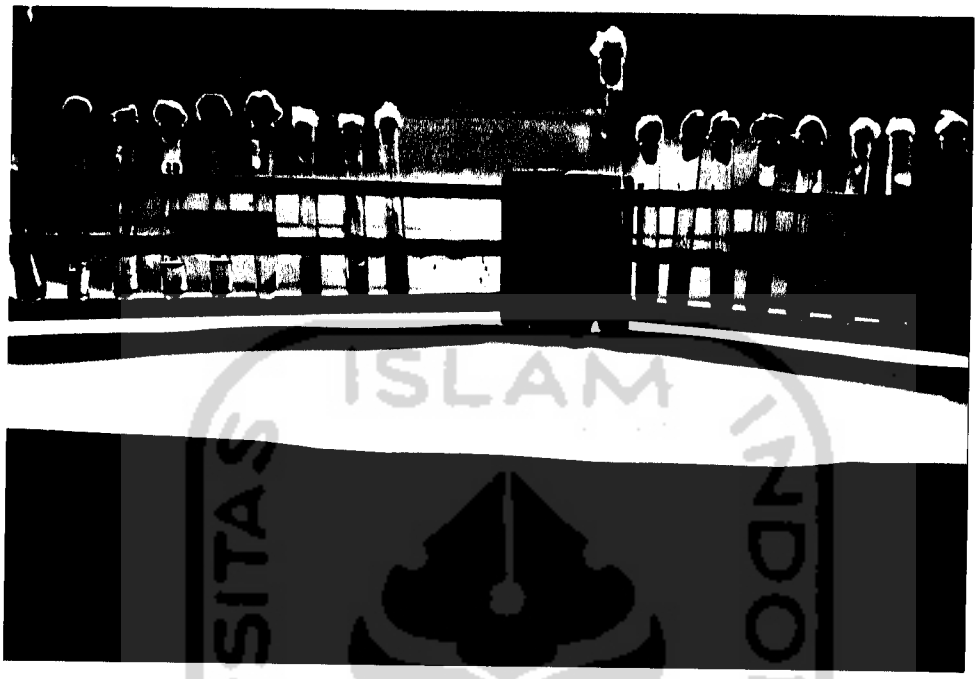
Lampiran 8. Gambar-gambar



Gambar 1. Perhitungan angka kuman total



Gambar 2. Bakteri *Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Mac Conkey agar*



Gambar 3. Deret uji biokimiawi bakteri *Eschericia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa*

DEPARTEMEN KESEHATAN R.I.
POLITEKNIK KESEHATAN YOGYAKARTA
JURUSAN ANALIS KESEHATAN
Ngadinegaran MJ. III / 62
Yogyakarta 55143
Telp. : (0274) 374
Fax. : (0274) 374

SURAT KETERANGAN
Nomor : DL.02.02.II.7.02.236

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : R. Fx. Saptono Putro SPd, ST, MKes
NIP : 140 113 049
Pangkat/Gol : Penata/ III C
Jabatan : Kepala Jurusan Analis kesehatan Yogyakarta

Menerangkan bahwa :

Nama : KHRISMA NIRMALASARI
No. Mhs. : 99613182
Jurusan : Farmasi F. MIPA
Universitas : UII Yogyakarta

Telah melaksanakan penelitian di Laboratorium Bakteriologi Poltekkes Jurusan Analis Kesehatan Yogyakarta guna menyusun Tugas Akhir dengan judul :

" Analisa Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli* dalam salah satu produk susu Pasteurisasi yang disimpan pada waktu yang berbeda.

Demikian surat keterangan ini dibuat, untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 10 Agustus 2003

Ketua jurusan Analis kesehatan

(R.Fx.Saptono Puetro Spd, St, Mkes)
NIP.140 113 049