

PEMERIKSAAN CEMARAN *Escherichia coli*, *Shigella sp* DAN *Salmonella sp* PADA SUSU SAPI PERAH YANG DIPEROLEH DARI PETERNAKAN ASAM KUMBANG KECAMATAN MEDAN SELAYANG

EXAMINATION OF CONTAMINATION OF *Escherichia coli*, *Shigella sp* AND *Salmonella sp* IN CATTLE MILK OBTAINED FROM ASAM KUMBANG CATTLE FARM, KECAMATAN MEDAN SELAYANG

^{1*}Zuhairiah, ¹Siti Maimunah, ²Maringan Silitonga

¹Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

²Badan Pengawasan Obat dan Makanan

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Alamat email: zuhairiahnasution@gmail.com

Abstrak. Susu merupakan minuman yang oleh masyarakat wajib untuk dikonsumsi, terutama bagi anak-anak oleh karena itu, susu haruslah bebas dari kontaminasi bakteri *Escherichia coli*, *Shigella sp* dan *Salmonella sp*, melalui alat-alat yang digunakan kurang bersih, lingkungan yang kotor, tangan pekerja, dan lain-lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya bakteri *Escherichia coli*, *Shigella sp*, dan *Salmonella sp* pada Susu Sapi Perah yang Diperoleh dari Peternakan Asam Kumbang Kecamatan Medan Selayang. Sampel penelitian adalah sepuluh sampel susu sapi perah dalam satu peternakan dengan sapi berbeda yang dilakukan dengan dua perlakuan secara aseptis dan non aseptis. Metode penelitian yang digunakan jenis penelitian deskriptif dengan metode MPN (*Most Probable Number*) untuk menghitung bakteri koliform yang dilanjutkan dengan pemeriksaan media LB, BGLB, EMBA, pewarnaan gram, uji biokimia, uji IMVIC dan menggunakan metode pengujian terhadap sampel pada bakteri *Shigella sp* dan *Salmonella sp* dilanjutkan dengan pemeriksaan media NB, SCB, SSA, pewarnaan gram, uji biokimia dan IMVIC. Hasil penelitian menunjukkan satu sampel aseptis A dan 3 sampel non aseptis A, B, C adanya bakteri *Escherichia coli* pada susu sapi perah. Kualitas air susu harus sesuai dengan persyaratan Mutu Susu Segar SNI 3141.1:2011 dan Batas Maksimum Cemarkan Mikroba pada Susu Segar SNI 7388-2009.

Kata Kunci: *Susu Sapi Perah, Escherichia coli, Shigella sp dan Salmonella sp*

Abstract. Milk is a drink that is mandatory for consumption by the public, especially for children, therefore, milk must be free from contamination with *Escherichia coli*, *Shigella sp* and *Salmonella sp* bacteria, through the tools used are not clean, the environment is dirty, the hands of workers, and others. This study aims to determine the presence or absence of *Escherichia coli*, *Shigella sp*, and *Salmonella sp* bacteria in Dairy Cow Milk obtained from the Asam Kumbang Farm, Medan Selayang District. The research sample was ten samples of milk from dairy cows in one farm with different cows which were treated with two aseptic and non-aseptic treatments. The research method used is descriptive research with MPN (*Most Probable Number*) method to count coliform bacteria followed by an examination of LB, BGLB, EMBA media, gram staining, biochemical tests, IMVIC tests, and user testing methods on samples of *Shigella sp* and *Salmonella sp* followed by an examination of NB, SCB, SSA media, gram staining, biochemical tests, and IMVIC. The results showed that one aseptic sample A and 3 non-aseptic samples A, B, C had *Escherichia coli* bacteria in dairy cows' milk. The quality of milk must comply with the requirements of SNI 3141.1:2011 Fresh Milk Quality and the Maximum Limit of Microbial Contamination in SNI 7388-2009 Fresh Milk.

Keywords: *Dairy Cows Milk, Escherichia coli, Shigella sp and Salmonella sp*

PENDAHULUAN

Susu merupakan bahan pangan alami yang mempunyai nutrisi sangat lengkap dan telah dikonsumsi oleh seluruh masyarakat. Susu merupakan minuman alami dengan komposisi lemak dan bahan kering tanpa lemak yang terdiri atas protein, laktosa, mineral, enzim dan berbagai vitamin [1]. Air susu mengandung beberapa macam mineral yang terdapat dalam air susu berasal dari makanan yang dikonsumsi, namun komposisinya tidak sama seperti dalam makanan. Mineral yang terdapat dalam air susu adalah Ca (Calcium), B (Boron), K (Kalium), Mg (Magnesium), Mn (Mangan), I (Iodium), Fe (Besi), Na (Natrium), Cl (Chlor), Co (Cobalt), Cu (Tembaga), Se (Selenium), dan S (Sulfur)[2].

Susu merupakan hasil pemerahan yang berasal dari ternak sapi perah atau dari ternak menyusui lainnya yang diperah secara berkelanjutan dan komponen-komponen didalamnya tidak dikurangi maupun ditambahkan dengan bahan-bahan lain[3]. Protein susu terdiri dari kasein yang merupakan 80% dari seluruh protein susu dan juga pembawa mineral Calcium (Ca) dan Phosphate (P), sedangkan protein yang terkandung pada daging adalah vitamin B12 yang hanya ditemukan pada makanan hewani. Susu yang mengandung berbagai jenis komponen gizi merupakan substrat yang baik bagi pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri. Pertumbuhan berbagai jenis mikroba tersebut dapat menyebabkan perubahan-perubahan pada susu seperti rasa, bau, warna dan bentuk sehingga tidak sesuai lagi untuk dikonsumsi segar ataupun dijadikan sebagai bahan baku dalam memproduksi berbagai olahan susu [2]. Sapi perah menghasilkan susu dengan keseimbangan nutrisi sempurna yang tidak dapat digantikan bahan makanan lain. Sapi perah merupakan ternak penghasil susu yang sangat dominan dibandingkan ternak perah lainnya. Susu juga sebagai bahan organik yang dapat menjadi sarana potensial bagi pertumbuhan maupun pencemaran bakteri [2]. Kontaminasi pada susu sapi dapat berasal dari berbagai sumber yaitu dari ambung sapi, tubuh sapi, debu di udara, peralatan yang kotor dan manusia yang melakukan pemerahan. Kontaminasi bakteri pada susu dimulai pada saat proses pemerahan sampai konsumsi [1]. Bakteri yang mengontaminasi susu dikelompokkan menjadi dua yaitu Bakteri patogen dan bakteri pembusuk. Salah satu kontaminan yang dapat mencemari makanan ataupun minuman adalah bakteri, diantaranya *Escherichia coli*, *Salmonella sp* dan *Shigella sp*[4]. *Salmonella sp* pada umumnya menginvasi saluran cerna dan dapat masuk ke tubuh manusia melalui makanan tercemar yang tidak diproses dan disajikan dengan baik pada suhu 45°C dengan kondisi pH 4,4 atau 9,4 [4]. *Salmonella sp* dapat menimbulkan penyakit pada tubuh manusia yang disebut dengan salmonellosis. Salmonellosis disebabkan dari makanan yang tercemar oleh *Salmonella sp* yang dikonsumsi manusia. Salmonellosis ditandai dengan gejala demam dan timbul secara akut, diare, mual, dan terkadang muntah [5].

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, inkubator, autoklaf, lampu spiritus, mikro pipet, object glass, deck glass, kapas, cawan petri, mikroskop, tabung reaksi, ose, hotplate, magnetic stirrer, gelas beaker, aquades, air suling, batang pengaduk, tabung durham, dan rak tabung.

Bahan

Susu, Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Simmons's Citrat Agar* (SCA), EMBA, SIM, TSIA, LB, BGLB, Nutrient Broth (NB), Selenite Cystine Broth (SCB), larutan safranin, aquades, larutan lugol, Alkohol 70%, Minyak emersi, HCl, Pepton water, kapas steril, matil red, alfa naftol, cotton bud, KOH dan Gentian violet.

Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang diperlukan dicuci dengan dan dibersihkan lalu dibilas pertama dengan HCL dan terakhir dengan air suling. Alat-alat dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka, setelah kering dibungkus dengan kertas bersih. Alat-alat dari kaca di sterilkan di oven pada suhu 180°C selama 1-2 jam.

2. Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari peternakan sebanyak 5 sampel dengan menggunakan botol kaca yang sudah di sterilkan Secara Aseptis (Sampel susu diambil langsung dari sapi perah melalui puting susu sapi yang sudah dibersihkan dengan menggunakan alkohol 96%, memakai *handscoon* dan masker) dan Secara Non Aseptis (Sampel susu diambil langsung dari sapi perah melalui puting susu sapi tanpa menggunakan alkohol 96%, *handscoon* dan masker).

3. Pewarnaan Bakteri

Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Jarum ose dan mulut tabung di bakar terlebih dahulu agar steril, cuci gelas objek dengan alcohol 70% lalu di fiksasi, kemudian fiksasi objek glass pada lampu spiritus yang telah dibersihkan dengan alcohol 70 % dan di beri aquadest. Letakkan satu tetes air suling pada gelas objek. Suspensikan satu ose biakkan koloni bakteri, ratakan dan fiksasi di atas nyala api tetapi jangan terlalu lama di atas nyala api, lalu tambahkan satu tetes gentian violet selama 2 menit. Lalu dibilas dengan air mengalir (aquadest), tambahkan satu tetes larutan lugol, ratakan diamkan selama 1-2 menit dan fiksasi. Kemudian cuci objek glass dengan alcohol 70 % sampai tetesan terakhir tidak berwarna, keringkan. Setelah itu tambahkan satu tetes safranin, biarkan 15-30 detik, cuci larutan safranin dengan air suling steril, keringkan. Tetesi dengan minyak imersi, lalu lihat pada mikroskop dengan perbesaran 100 kali, amati warna dan bentuk dari bakteri. Warna ungu/violet menunjukkan bakteri gram positif, dan warna merah jambu (pink) menunjukkan bakteri gram negatif [6].

4. Uji Biokimia

Uji gula yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri dalam menghidrolisis karbohidrat dengan menggunakan 5 jenis gula yaitu glukosa, laktosa, sukrosa, maltose, manitol. Media gula-gula (glukosa, laktosa, sukrosa, maltose, manitol) [7].

5. Uji IMVIC (Indol Metil Red Voges Proskaver Citrat)

Uji indol, dilakukan dengan mengambil satu koloni terpisah dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasi ke dalam media SIM dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi ditambahkan 10-12 tetes reagen Kovac. Uji positif ditandai dengan terbentuknya lapisan berwarna merah di bagian atas biakan [8]. Uji merah metil, dilakukan dengan mengambil satu koloni terpisah dari biakan EMBA dengan menggunakan jarum ose, kemudian diinokulasi ke dalam media MR-VP dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada uji MR, ditambahkan 3-4 tetes indikator merah metil. Uji positif ditandai dengan perubahan warna medium menjadi merah, artinya terbentuk asam [9]. Uji VP (Voges Proskaver), dilakukan dengan mengambil biakan EMBA dan ditanam 1 ose ke dalam MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 0,6 ml larutan alfa naftol dan 0,2 ml larutan KOH 40%. Di homogenkan lalu didiamkan selama beberapa menit. Uji VP (Voges Proskauer) akan menunjukkan hasil positif bila larutan menunjukkan warna merah [9]. Uji Sitrat, dilakukan dengan menginokulasi 1 ose biakan ke dalam media simmons citrate. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. warna biru menunjukkan reaksi positif, sedangkan warna hijau menunjukkan reaksi negatif [10].

6. Pengujian Terhadap Sampel

Pengujian terhadap sampel dimulai dari tahap pra-pengkayaan, dimana 10 sampel susu yang sudah dimasukkan ke dalam botol steril ditambahkan aquades 100 ml pada masing-masing botol yang sudah berisi sampel susu selanjutnya dihomogenkan, kemudian pipet sebanyak 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham dengan posisi terbalik dan berisi 10 ml NB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil pengamatan positif, jika pada tabung durham terbentuk gas atau medium menjadi keruh [11]. Tahap berikutnya adalah pengkayaan yang bertujuan untuk memperbanyak jumlah bakteri yang akan di uji, sedangkan pada bakteri lain dihambat pertumbuhannya. Sampel bakteri yang telah melalui tahapan pra pengkayaan dengan menggunakan NB selanjutnya di per kaya dengan menggunakan SCB dengan cara : ambil 1 ml biakan dari medium NB, kemudian dimasukkan ke dalam 10 ml SCB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam [11]. Tahap terakhir adalah isolasi bakteri pada media selektif yang bertujuan untuk mengenal karakteristik yang dimiliki oleh salah satu jenis bakteri, dilakukan dengan mengisolasi bakteri pada media selektif. Prosedur kerja isolasi pada media selektif, apabila hasil yang diperoleh dari tabung. Jika menunjukkan pertumbuhan yang positif (berwarna putih dan keruh) kemudian dilanjutkan penggoresan pada media *Salmonella shigella* Agar (SSA) yang telah disiapkan untuk menyeleksi koloni *Salmonella* dan *Shigella*, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C

selama 24 jam dan diamati koloni *Salmonella* pada media dengan ciri koloni bening sampai buram dengan bintik hitam ditengah dan *Shigella* pada media dengan ciri koloniberwarna putih transparan [12].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Bakteri Pada Susu Sapi Segar

Langkah pertama yang dilakukan adalah pengambilan sampel susu sapi segar yang diambil langsung dari peternakannya yang berada di peternakan asam kumbang kecamatan medan selayang pada saat waktu sapi baru diperah (jam 14.00 WIB). Sampel diambil dari 5 ekor sapi yang berbeda di peternakan yang sama yaitu 1 sapi di perah dengan 2 perlakuan secara aseptis dimana para pemerah memakai handscoon, masker dan membersihkan bagian puting sapi dengan alkoholdannon aseptis pemerah tidak menggunakan handscoon, masker dan alkohol. Hasil penelitian pemeriksaan cemaran *Escherichia coli*, *Shigella sp*, dan *Salmonella sp* yang Diperoleh dari Peternakan Asam Kumbang Kecamatan Medan Selayang yang dilakukan di Laboratorium Universitas Sari Mutiara diperoleh data hasil penelitian pada **Tabel 1**.

Tabel 1.Sampel yang Tercemar *Escherichia coli*

Sampel	Tercemar <i>Escherichia coli</i>
Aseptis A	Positif <i>Escherichia coli</i>
Aseptis B	Negatif <i>Escherichia coli</i>
Aseptis C	Negatif <i>Escherichia coli</i>
Aseptis D	Negatif <i>Escherichia coli</i>
Aseptis E	Negatif <i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis A	Positif <i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis B	Positif <i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis C	Positif <i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis D	Negatif <i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis E	Negatif <i>Escherichia coli</i>

Hasil Uji MPN

Hasil pemeriksaan susu perah, pada tes awal yaitu uji penduga yang dilakukan di media Lactosa Broth (LB) dengan tiga pengenceran yaitu 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml dan tiga seri tabung per sampelnya membuktikan bahwa terbentuknya gas pada tabung durham. Hasil tes uji penduga dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2.Hasil Awal Pada Media Lactosa Broth (LB)

Sampel	10 ml	1 ml	0,1 ml
Aseptis A	+ - -	- + -	+ - -
Aseptis B	---	---	---
Aseptis C	---	---	---
Aseptis D	---	---	---
Aseptis E	---	---	---
Non Aseptis A	+++	+++	+++
Non Aseptis B	+++	+++	+++
Non Aseptis C	+++	+++	+++
Non Aseptis D	---	---	---
Non Aseptis E	---	---	---

Keterangan : (+) adanya *Escherichia coli*

(-) tidak adanya *Escherichia coli*

Dari penanaman sampel sebanyak 10 sampel dengan dua perlakuan yaitu 5 sampel secara aseptis dan 5 sampel secara non aseptis, pada uji penduga membuktikan bahwa sampel aseptis A dan

sampel non aseptis A, B, C, telah tercemar oleh bakteri yang menunjukkan adanya gas pada tabung durham yang berisi media Lactosa Broth dinyatakan positif.

Hasil Uji BGLB

Sampel pada uji awal yang terbukti positif kemudian dilanjutkan pada uji penegasan pada *Media Brilliant Green Lactosa Broth* (BGLB) pada suhu 35°C selama 24 jam dan hasilnya pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Uji Penegasan Dengan Media BGLB

Sampel	10ml	1 ml	0,1 ml
Aseptis A	+ --	- +-	+ --
Aseptis B	---	---	---
Aseptis C	---	---	---
Aseptis D	---	---	---
Aseptis E	---	---	---
Non Aseptis A	+++	+++	+ --
Non Aseptis B	+++	+++	+++
Non Aseptis C	+++	- ++	+++
Non Aseptis D	---	---	---
Non Aseptis E	---	---	---

Hasil uji MPN dinyatakan positif adanya bakteri coliform bila setelah inkubasi terjadi perubahan kekeruhan pada cairan dan terbentuk gas pada tabung durham, sedangkan uji MPN dinyatakan negatif apabila tidak terjadi kekeruhan dan tidak terdapat gas pada tabung durham. Pada sampel yang positif aseptis A dan non aseptis A, B, C terdapat gas pada tabung durham. Tabung yang menghasilkan gas dari uji penegasan di lanjutkan ke tabel MPN [5]. Pengujian MPN pada 10 sampel secara aseptis dan non aseptis yang diperiksa memiliki hasil yang beragam. Hasil uji MPN akan dianalisa menggunakan tabel MPN seri 3 tabung yang dikeluarkan oleh SNI 2897:2008 untuk melihat jumlah *coliform* [14].

Tabel 4. Hasil Perhitungan Dengan Indeks MPN

Sampel	Jumlah Tabel Positif	MPN/ml
Aseptis A	1 1 1	11
Aseptis B	0 0 1	3
Aseptis C	1 0 0	4
Aseptis D	1 0 0	4
Aseptis E	0 1 0	3
Non Aseptis A	3 3 1	460
Non Aseptis B	3 3 3	>1.100
Non Aseptis C	3 2 3	290
Non Aseptis D	1 1 0	7
Non Aseptis E	1 0 1	3

Hasil pemeriksaan pada media BGLB didapat hasil perhitungan dengan indeks MPN yang tertera pada **Tabel 4**, yang diketahui bahwa susu yang diperoleh dari Peternakan Asam Kumbang Kecamatan Medan Selayang sebanyak 10 sampel secara aseptis dan non aseptis tercemar bakteri coliform yang jumlahnya melebihi batas normal sesuai dengan Ditjen POM tahun 2009 tentang jelly agar yaitu < 3/ml [15]. Berdasarkan **Tabel 4**, dari 10 sampel susu segar yang mengandung bakteri coliform terdapat 4 sampel susu segar yaitu aseptis A dan non aseptis A, B, dan C yang mengandung bakteri *Escherichia coli* sehingga bertentangan dengan SNI 7388 – 2009, yaitu dalam susu segar tidak boleh ada bakteri *Escherichia coli* (<3 MPN/ml), baik yang akan diproses lebih lanjut ataupun dikonsumsi langsung [15]. Sedangkan enam sampel lainnya yang tidak mengandung *Escherichia coli* adalah sampel aseptis B, C, D, E dan non aseptis D, E tetapi terdapat bakteri koliform lain dengan jumlah banyak yang juga bertentangan dengan batas maksimum cemaran

mikroba SNI 2009. Dengan demikian, 10 sampel susu segar baik aseptis ataupun non aseptis yang diujikan tidak ada yang layak untuk dikonsumsi.

Hasil Uji EMBA

Setelah dilakukan pada Media BGLB, tabung reaksi yang bersifat adanya gas dan asam di media BGLB selanjutnya dilakukan penanaman pada Media (Eosin Methylen Blue Agar) EMBA dengan suhu 35°C selama 24 jam. Koloni bakteri *Escherichia coli* tumbuh berwarna merah kehijauan dengan kilat logam metalik [16].Maka di dapat hasil pada **Tabel 5** sebagai berikut.

Tabel 5. Hasil Uji Kesempurnaan dengan Media EMBA

Sampel	Bentuk	Warna Pigmen	Koloni	Sifat
Aseptis A	Bulat	Kilap logam	Basah	Meragikan laktosa
Aseptis B	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
Aseptis C	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
Aseptis D	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
Aseptis E	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
Non Aseptis A	Bulat	Kilap logam	Basah	Meragikan laktosa
Non Aseptis B	Bulat	Kilap logam	Basah	Meragikan laktosa
Non Aseptis C	Bulat	Kilap logam	Basah	Meragikan laktosa
Non Aseptis D	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
Non Aseptis E	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa

Setelah dilakukan uji EMBA ada 5 sampel yang diuji secara aseptis dan non aseptis, hasil didapatkan secara aseptis sampel A mempunyai bentuk koloni berwarna kilap logam kilap logam bersifat meragikan laktosa dan sampel B, C, D, E mempunyai bentuk koloni berwarna putih jernih tidak meragikan laktosa, sedangkan secara non aseptis sampel A, B, C mempunyai bentuk koloni berwarna kilap logam meragikan laktosa dan sampel D, E mempunyai bentuk koloni berwarna putihjernih dan tidak meragikan laktosa. Sampel Aseptis A dan non aseptis A, B, C yang diduga ialah bakteri *Escherichia coli*.

Hasil Pewarnaan Gram dari Isolasi EMBA

Hasil pewarnaan gram EMBA menunjukkan bakteri bentuk kokobasil berdasarkan pewarnaan gram adalah gram negatif, ditandai dengan bakteri yang berwarna merah muda. Warna merah yang dihasilkan tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri gram negatif karena bakteritersebut memiliki dinding sel yang tipis sehingga warna yang terserap adalah warna sekunder yaitu safranin [9].

Hasil Uji Biokimia

Hasilpengujian pada Media EMBA selanjutnya dilakukan uji biokimia dan uji IMVIC. Uji biokimia terdiri dari uji gula-gula dan uji IMVIC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer dan Citrat). Pada pengujian ini terfokus untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli*.

Tabel 6. Hasil Pewarnaan pada Media Gula-Gula

Sampel	Glukosa	Laktosa	Maltosa	Mannitol	Sukrosa	Bakteri
Aseptis A	+gas	+gas	+gas	+gas	+gas	<i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis A	+gas	+gas	+gas	+gas	+gas	<i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis B	+gas	+gas	+gas	+gas	+gas	<i>Escherichia coli</i>
Non Aseptis C	+gas	+gas	+gas	+gas	+gas	<i>Escherichia coli</i>

Hasil uji gula-gula yang terlihat pada **Tabel 6** yaitu sampel aseptis A dan sampel non aseptis A, B, C yang diuji semuanya positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna media dari ungu menjadi kuningkeruh dan adanya gas pada tabung durham, hal tersebut merupakan ciri-ciri bakteri *Escherichia coli* pada uji gula-gula.Uji gula-gula bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan fermentasi bakteri terhadap karbohidrat. Hasil yang didapat dari uji gula-gula yaitu perubahan warna media dari hiaju menjadi kuning keruh dan adanya gas pada tabung durham yang

menunjukkan bahwa bakteri ini mampu memfermentasi karbohidrat dan adanya ciri-ciri dari bakteri *Escherichia coli* pada uji gula-gula. Hasil penelitian susu sapi perah yang diperoleh dari Peternakan Asam Kumbang Kecamatan Medan Selayang 10 sampel yang di uji hanya 1 sampel aseptis A dan 3 sampel non aseptis A, B, C, yang positif dengan terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi kuning keruh dan terbentuknya gas pada tabung durham [6].

Tabel 7. Hasil Uji IMVIC

Sampel	Indol	Methyl Red	Voges Proskauer	Citrat
Aseptis A	+	+	-	-
Non Aseptis A	+	+	-	-
Non Aseptis B	+	+	-	-
Non Aseptis C	+	+	-	-

Uji indol bertujuan mengidentifikasi kemampuan bakteri menghasilkan indol dengan menggunakan enzim *tryptophan* produksi indol di dalam media dimungkinkan karena adanya *tryptophan*. *Tryptophan* adalah asam amino esensial yang teroksidasi oleh beberapa bakteri yang mengakibatkan pembentukan indol, asam piruvat, dan amonia. Hasil uji indol bakteri *Escherichia coli* adalah positif yang ditunjukkan adanya cincin merah pada bagian atas, hal ini disebabkan karena indol bereaksi dengan aldehyd. Namun karena cincin mudah memudar oleh gerakan yang tiba-tiba, cincin menjadi pecah dan menghasilkan warna merah muda [8]. Uji *Methyl Red* (MR), bertujuan untuk mendeteksi kemampuan organisme dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. Hasil pengamatan untuk uji MR pada isolat bakteri *Escherichia coli* adalah positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah [8]. Uji *Voges Proskauer* (PV) adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi acetoin dalam kultur cair bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan *alphanaftol* dan kalium hidroksida dengan kaldu *Voges Proskauer* yang telah diinokulasi dengan bakteri. Warna merah menunjukkan hasil yang positif, sedangkan warna kuning coklat atau tidak berwarna merupakan hasil negatif. Uji ini negatif untuk *Escherichia coli* karena *Escherichia coli* memfermentasi karbohidrat menjadi produk asam dan tidak menghasilkan produk netral seperti *asetonin* [8]. Uji citrat bertujuan mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Jika bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber carbonnya maka akan menaikkan PH dan mengubah warna medium biakan dari hijau menjadi biru. Hasil pengamatan untuk uji sitrat adalah negatif pada *Escherichia coli* yang ditunjukkan tidak adanya perubahan warna pada uji sitrat. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang tidak menggunakan sitrat sebagai sumber carbon dilingkungan [8].

Pembiakan *Shigella sp* dan *Salmonella sp* Pada Media NB

Sampel sebanyak 10 sampel dibiakkan pada media NB dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, maka diperoleh hasil pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Hasil Pembiakan Pada *Media Nutrient Broth* (NB)

Sampel	<i>Shigella sp</i>	<i>Salmonella sp</i>
Aseptis A	-	-
Aseptis B	-	-
Aseptis C	-	-
Aseptis D	-	-
Aseptis E	-	-
Non Aseptis A	-	-
Non Aseptis B	-	-
Non Aseptis C	-	-
Non Aseptis D	-	-
Non Aseptis E	-	-

Keterangan : (-) = jernih bening, tidak terbentuk gas/buih pada tabung durham

Sampel yang berjumlah 10 sampel pada pembiakan media NB setelah diinkubasi menunjukkan hasil negatif karena dapat dilihat tidak terjadi perubahan kekeruhan cairan dan tidak terbentuknya buih atau gas pada tabung Durham. Kemudian pembiakan dilanjutkan pada tahap Enrichment pada media SCB kemudian diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 24 jam [14].

Pembiakan *Shigella sp* dan *Salmonella sp* Pada Media SCB

Hasil penelitian yang diperoleh pada tabung memperlihatkan tumbuhan yang negatif yaitu tidak adanya gas pada tabung Durham setelah diinkubasi selama 24 jam. Ini menandakan tidak adanya bakteri pada tabung enrichment. Uji dinyatakan positif terdapat bakteri bila setelah diinkubasi akan berbusa dan adanya gas pada tabung Durham setelah diinkubasi selama 24 jam.

Tabel 9. Hasil Pembiakan Pada Media *Selenite Cystine Broth* (SCB)

Sampel	<i>Shigella sp</i>	<i>Salmonella sp</i>
Aseptis A	-	-
Aseptis B	-	-
Aseptis C	-	-
Aseptis D	-	-
Aseptis E	-	-
Non Aseptis A	-	-
Non Aseptis B	-	-
Non Aseptis C	-	-
Non Aseptis D	-	-
Non Aseptis E	-	-

Keterangan :

(-) : tidak terbentuknya gas/buih pada tabung Durham

Hasil pada data di atas dinyatakan negatif, artinya tidak terdapat bakteri sehingga tidak dilanjutkan ke tahapan uji selanjutnya seperti penanaman pada media selektif yaitu pada media SSA, pewarnaan gram, dan uji biokimia.

Isolasi Bakteri Pada Media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA)

Isolasi bakteri pada media selektif menggunakan media SSA yang merupakan tempat tumbuhnya *Salmonella sp* dan *Shigella sp*. Adanya koloni *Salmonella* pada media dapat dilihat dengan ciri koloni tidak berwarna, bening transparan dengan bintik hitam di tengah dan *Shigella* tidak berwarna, putih transparan. Berdasarkan pengamatan pada 10 sampel yang merupakan hasil dari tahap Enrichment tidak terdapat susu sapi yang diduga mengandung *Salmonella sp* dan *Shigella sp* yang seharusnya pada tahap ini tidak perlu dilanjutkan karena pada tahap pra pengkayaan dan pengkayaan (Enrichment) tidak terdapat bakteri (**Tabel 10**).

Tabel 10. Hasil Pembiakan Pada Media *Salmonella-Shigella Agar* (SSA)

Sampel	<i>Shigella sp</i>	<i>Salmonella sp</i>
Aseptis A	-	-
Aseptis B	-	-
Aseptis C	-	-
Aseptis D	-	-
Aseptis E	-	-
Non Aseptis A	-	-
Non Aseptis B	-	-
Non Aseptis C	-	-
Non Aseptis D	-	-
Non Aseptis E	-	-

Keterangan : Negatif = tidak terbentuk koloni bening dengan bintik hitam di tengah pada *Salmonella sp* dan tidak terbentuk koloni bening transparan pada *Shigella sp* pada media SSA yang

negatif tidak mengandung *Salmonella sp* dan *Shigella sp*. Pada media SSA cecair mikroba dalam susu sapi perah tidak ditemukan adanya bakteri *Shigella sp* dan *Salmonella sp* maka tidak diteruskan ke tahap selanjutnya yaitu uji biokimia dan uji IMVIC.

Pembahasan

Hasil pewarnaan pada sepuluh sampel menunjukkan bahwa ada 1 aseptis A dan 3 non aseptis A,B,C mengandung bakteri yang mempunyai morfologi bentuk batang pendek dengan sifat gram negatif (warna merah). Dengan ditemukannya bakteri *Escherichia coli* pada susu sapi perah menunjukkan bahwa susu tersebut tidak memenuhi syarat secara bakteriologi dan perlu dilakukan pemeriksaan bakteri jenis lain. Untuk menghindari terjadinya kontaminasi pada makanan ataupun minuman diperlukan program sanitasi. Susu sapi segar yang tercemar oleh bakteri patogen, dapat disebabkan oleh beberapa faktor, baik langsung ataupun tak langsung. Menurut Latifa [15], faktor langsung disebabkan karena terjadi infeksi pada ambing sapi, sedangkan faktor tak langsung disebabkan karena feses dari sapi tersebut mengkontaminasi bagian ambing dan puting sapi seekor sapi, saat sedang pemerah susu permukaan susu yang ditampung terkontaminasi feses sapi, dan kontaminasi pasca pemerahan [15]. Penelitian yang dilakukan oleh Latifa [15], menyatakan bahwa terdapat hubungan antara derajat higienis sanitasi kandang seperti kebersihan kandang sapi, kebersihan sapi, kebersihan peralatan, dan kebersihan karyawan. Faktor yang menyebabkan 4 sampel pada penelitian ini mengandung *Escherichia coli* disebabkan sanitasi peternakan yang buruk karena kandang sapi yang sempit dan terpencil diantara rumah warga yang menyebabkan tempat pembuangan feses sapi tidak terlalu jauh dari kandang sapi, air di peternakan tersebut sudah tercemar *Escherichia coli*, peralatan bekas pakai pemerahan hanya dicuci dengan air yang belum tercemar ataupun sudah tercemar *Escherichia coli*, payudara sapi hanya dicuci dengan air dari keran sehingga kemungkinan besar bakteri dari feses ataupun kolon sapi masih menempel di payudara, sehingga susu yang diperah terkontaminasi dengan *Escherichia coli*. Selain itu bisa disebabkan oleh higienis pemerah yang tidak dijaga seperti memakai baju khusus saat pemerahan dan mencuci tangan dengan sabun sebelum dan sesudah pemerah, dari sapi yang satu ke sapi yang lain karena biasanya pemerah lebih sedikit daripada sapi dalam satu peternakan. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan Latifa [15], yang menyatakan bahwa adanya hubungan antara adanya bakteri dengan sanitasi kandang sapi dan higienis pemerah [15]. Pemerahan susu pada peternakan yang diteliti dalam penelitian ini adalah peternakan yang melakukan pemerahan secara manual yaitu menggunakan tangan pemerah dan menggunakan peralatan yang masih tradisional pula. Hal yang harus dilakukan sebelum pemerahan membersihkan kandang dan peralatan pemerahan, memandikan sapi terutama pada bagian ambing, ambing di lap dengan air hangat untuk menghindari pencemaran bakteri, pekerja diusahakan memakai pakaian khusus yang bersih, selesai pemerahan susu segera disaring dengan kain nilon [7]. Sanitasi kandang sapi dan higienis lingkungan sekitar sangat penting bagi sapi yang dipelihara ataupun bagi peternak. Kebersihan perlengkapan dan peralatan yang dipakai sangat mempengaruhi kebersihan dan kesehatan air susu. Perlengkapan dan peralatan tersebut antara lain ember tempat pemerahan, dan kain bersih untuk menyaring susu terhadap kotoran dan bulu sapi pada saat susu dituangkan ke dalam milk can, semua alat yang digunakan sebelum dan sesudah dipakai harus selalu dalam keadaan bersih atau steril. Agar semua peralatan yang dipakai menjadi steril, alat-alat tersebut harus dicucikan dengan cara merendam dalam larutan desinfektan, lalu dicuci dengan air, lalu dibilas dengan air panas dan dijemur [7].

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang diperoleh dari Peternakan Asam Kumbang Kecamatan Medan Selayang menunjukkan satu sampel yang diteliti secara aseptis dan tiga sampel non aseptis terdapat sampel yang terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Simamora, Devi. 2014. Identifikasi *Staphylococcus aureus* Pada Susu Sapi Perah yang Diperjual belikan Di Peternakan Asam Kumbang Kecamatan Medan Selayang. Universitas Sari Mutiara Indonesia Medan. Hal.28
- [2] Prasetya, Haryadi. 2012. Prospek Cerah Beternak Sapi Perah. Pustaka Baru Press: Yogyakarta. Hal.19
- [3] Rahmat. 2016. Penetapan Kadar Karbohidrat pada Susu Sapi Perah Murni yang Dijual Di Jalan A.H. Nasution Medan 2016. Universitas Sari Mutiara Indonesia Medan. Hal.1
- [4] Moch, Makin. 2011. Tata Laksana Peternakan Sapi Perah. Graha Ilmu.Yogyakarta. Hal.2
- [5] Yuswananda, Nindya P. 2015. Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp Pada Makanan Jajanan Di Masjid Fathullah Ciputat Tahun 2015. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Hal.3
- [6] Afriansyah, I. (2016). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang di Kecamatan Padang Selatan. Jurnal FK Unand. Hal. 1
- [7] Pratiwi, Dyah A. 2018. Personal Higiene Pemerah Susu Sapi dan Pemeriksaan Kandungan *Salmonella* sp. Pada Susu Sapi Perah dari Beberapa Lokasi Peternakan Sapi Perah Di Kota Medan Tahun 2017. Hal.25
- [8] Rahayu, S. Afrianti. 2017. Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Akademi Farmasi Bumi Siliwangi. Vol.4 No.2 Hal.26
- [9] Putri, D, Naftalena. (2015). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Es Batu yang Dijual Warung Nasi Di Kelurahan Pisangan tahun 2015. Jurnal. Universitas PGRI Palembang. Hal.26
- [10] Susanti, Ary. 2011. Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Beluntas (*Pluchea indica* less) terhadap *Escherichia coli* Secara in Vitro. Universitas Airlangga Surabaya. Hal. 9
- [11] Tantri, Bunga U.N. 2016. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*, *Shigella* sp, Dan *Salmonella* sp Pada Air Sumur Di Wilayah Pembuangan Limbah Tahu Dan Limbah Ikan Kota Bandar Lampung. Universitas Lampung. Hal.11
- [12] Hasrawati. 2016. Tingkat Cemarkan Bakteri *salmonella* sp Pada Daging Ayam Yang Dijual Di Pasar Tradisional Makassar. UIN Alauddin Makassar. Hal.13
- [13] Widiyastutik, Verry Shinta. 2013. Kepekaan *Escherichia coli* dari Susu Kambing Peranakan Etawa terhadap Antibiotika. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Hal.32
- [14] Rahmi, Erdiansyah. 2015. Isolasi dan Identifikasi Genus *Salmonella* dan *Shigella* dari Fese Orang Utan Sumatera (*Pongo abelii*) di Pusat Reintroduksi Orang Utan. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Hal.41
- [15] Latifa, Octafika H. A. 2015. Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Susu Sapi Segar dan Susu Sapi Cair Kemasan Ultra Hight Temperature (UHT) Di Kecamatan Mampang Prapatan Tahun 2015. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Hal.35
- [16] Alang, H. (2015). Deteksi Coliform Air PDAM di Beberapa Kecamatan Kota Makassar. Jurnal Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, STKIP-PI.Makassar. Hal.23