

Mastuti Widianingsih, Dian Catur Setyorini. (2019). Identifikasi *Staphylococcus Aureus* pada Abon sapi di Pasar Pahing Kota Kediri. *Journal Bioeksperimen*. Vol. 5 (2) Pp. 99-105. Doi: 10.23917/bioeksperimen.v5i2.2795

## IDENTIFIKASI *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PADA ABON SAPI DI PASAR PAHING KOTA KEDIRI

Mastuti Widianingsih\*, Dian Catur Setyorini

Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata

\*E-mail: widianingsihmastuti910224@gmail.com

**Abstract**-Contamination of processed beef foods such as abon can be caused by various types of microbes, one of which is *Staphylococcus aureus*. *Staphylococcus aureus* can cause various infections, both on the skin, gastrointestinal tract, or endocarditis. The objective of this research was to determine the presence of *Staphylococcus aureus* in beef abon sold in Pahing Market, Kediri. Abon used is non-branded beef abon which is as many as 10 samples obtained by total sampling technique. Samples were tested by observation of colony morphology through Gram staining, mannitol fermentation test, catalase and coagulase test, and acetoin test. The samples were inoculated on Broth NaCl (ink. 24 hour-37°C), then inoculated on MSA (ink. 24 hour-37°C), and VP (ink. 2x24 hours-37°C). Catalase and coagulase tests were carried out by taking colonies on MSA media. The results showed that there were 9 abon samples contaminated with *Staphylococcus aureus* as indicated by Gram positive staining results, positive (perfect) mannitol fermentation, and positive acetoin, catalase, and coagulase test. The causes of contamination are contaminated abon ingredients, the manufacturing process using less sterile tools, poor handling and processing, processing food with dirty hands, food stored without cover, sick food processors, and dirty markets.

**Keywords:** Abon, contamination, catalase, coagulase, *Staphylococcus aureus*

### Pendahuluan

Dewasa ini, banyak penyakit yang disebabkan oleh bakteri dengan melibatkan berbagai agen perantara, seperti udara, air, tanah, makanan, minuman, ataupun barang-barang lainnya. Genus *Staphylococcus*, khususnya *Staphylococcus aureus* ditemukan dapat menyebabkan kontaminasi pada daging se'i sapi, sosis babi (Rahayu dkk, 2014), ayam broiler (Lowder *et al.*, 2009) serta olahan ikan asap (Karimela dkk, 2017) yang tidak bermerk. Proses pengolahan makanan tidak bermerk umumnya dilakukan secara tradisional sehingga dapat meningkatkan risiko kontaminasi *Staphylococcus aureus* (Salasia dkk, 2009).

Kontaminasi *Staphylococcus aureus* mengakibatkan berbagai macam infeksi klinis, seperti bakterimia, infeksi kulit, infeksi saluran pencernaan (Thomer *et al.*, 2016), endokarditis, osteoartikular, dan pleuropulmonari (Tong *et al.*, 2015). Pemeriksaan adanya kontaminasi dapat dilakukan dengan identifikasi secara bakteriologi, yaitu melalui uji morfologi

(pewarnaan Gram), fermentasi manitol (*Manitol Salt Agar*), koagulase, katalase, dan uji produksi asetoin (*Voges-Proskauer*) (Windria *et al.*, 2016).

Abon menjadi salah satu produk olahan daging sapi yang mudah terkontaminasi. Sejauh ini, belum ada penelitian yang mengungkapkan adanya *Staphylococcus aureus* pada abon sapi, khususnya yang dijual di Pasar Pahing, Kota Kediri. Kondisi penyimpanan dan pasar yang kurang baik dapat mendukung terjadinya kontaminasi. Selain itu, kandungan nutrisi tinggi yang dimiliki abon, dapat dijadikan sebagai sumber nutrisi dan agen pertumbuhan bagi mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya *Staphylococcus aureus* pada abon sapi tidak bermerk yang dijual di Pasar Pahing, Kota Kediri.

### Metode Penelitian

Keseluruhan penelitian dilakukan pada bulan Februari-Maret 2017. Pengambilan sampel penelitian dilakukan di Pasar Pahing Kota Kediri, sedangkan pengujian sampel

dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. Sampel yang digunakan berupa 10 abon sapi tidak bermerk dan penentuan jumlah sampel dilakukan dengan teknik total sampling. Desain penelitian berupa deskriptif analitik dengan melibatkan 2 variabel yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus*, sedangkan abon sapi sebagai variabel terikat.

Alat yang digunakan meliputi neraca analitik Merck, spatel, beaker glass Pyrex, erlenmeyer Pyrex, gelas ukur Iwaki, ose bulat, *autoclave* Memmert (sterilisasi), *incubator* Memmert, mikroskop binokuler Olympus, *centrifuge* Hettich, *centrifuge tube* Iwaki, tabung reaksi, tabung Durham, dan tabung Khan Pyrex, serta *plate* Pyrex. Bahan yang dibutuhkan yaitu *aluminium foil*, *object glass*, *beef extract*, *pepton*, NaCl, *aquadest*, *Manitol Salt Agar* (MSA) Merck, KOH 40%, *Voges-Proskauer* (VP), *-naphthol* 5%, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, sampel darah, *natrium citrate*, NaCl fisiologis, *carbolfuchsin*, lugol, alkohol 95%, dan *fuschine*.

## Pengujian Sampel Penelitian

### 1. Preparasi sampel

Sampel abon yang didapat, diberi label untuk menghindari tertukarnya data. Label yang digunakan berupa huruf yaitu abon sapi A sampai J.

### 2. Sterilisasi alat dan bahan

Seluruh alat dan bahan disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Yulvizar, 2013).

### 3. Pembuatan Media

#### a. *NaCl Broth*

Media *NaCl Broth* terdiri dari *beef extract* (0,06 gram), *pepton* (0,51 gram), dan NaCl (0,1 gram) yang ditambahkan dengan 20 ml *aquadest*. Media dihomogenkan, kemudian

dimasukkan dalam tabung (@ 2ml) dan sterilkan.

#### b. *Voges-Proskauer*

Pembuatan VP membutuhkan 40 ml *aquadest* dan 0,68 gram VP yang dilarutkan dalam erlenmeyer, kemudian dituang masing-masing 4 ml ke tabung Khan (Hemraj *et al.*, 2013).

#### c. *Manitol Salt Agar*

Sebanyak 16,2 gram MSA dimasukkan dalam Erlenmeyer yang berisi *aquadest* 150 ml, selanjutnya dipanaskan hingga larutan homogen. Larutan tersebut kemudian dituang dalam *plate* (@ 15ml), lalu disterilkan (Yulvizar, 2013).

#### d. *Plasma Sitrat*

Pembuatan plasma sitrat 3,8% dilakukan dengan perbandingan antara darah (manusia) dan *natrium citrate* sebanyak 1:9. Campuran tersebut disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 1500 rpm (Jiwintarum dkk, 2015).

## 4. Inokulasi

Sampel ditambahkan dalam tabung reaksi yang berisi *NaCl Broth*, dihomogenkan dengan *centrifuge*, dan diinkubasi selama 1x24 jam suhu 37°C. Setelah itu, hasil inokulasi dilanjutkan ke media MSA serta VP (inkubasi 2x24 jam; 37°C) (Adejuwon *et al.*, 2011).

## 5. Pewarnaan Gram

Satu masa ose bakteri dihomogenkan dengan NaCl fisiologi kemudian dibuat apusan pada *object glass*, selanjutnya dikeringkan dengan fiksasi. Pewarnaan dilakukan berjenjang, yaitu dengan menambahkan 1 tetes *gentian violet* (2 menit), kemudian buang dan dilanjutkan dengan 1 tetes lugol selama 1 menit. Penambahan alkohol (1 tetes; 1 menit) pada tahap ketiga berfungsi melunturkan *gentian violet*. Tahap terakhir yaitu dengan pemberian *fuschine* (2 menit), lalu bilas dengan

*aquadest*. Preparat diamati dengan mikroskop binokuler guna mengetahui morfologi bakteri (Abera *et al.*, 2010).

## 6. Uji Katalase Koagulase dan Uji VP

### a. Uji katalase

Koloni bakteri yang ada pada media MSA diambil dengan menggunakan ose bulat steril, kemudian diletakkan pada *object glass* dan diberi 1 tetes  $H_2O_2$  3%. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung udara (Hemraj *et al.*, 2013; Yurdakul *et al.*, 2013).

### b. Uji Koagulase (*Slide Test*)

Koloni yang sama pada media MSA diletakkan pada *object glass* lalu ditambahkan larutan plasma sitrat. Apabila terjadi presipitasi saat dihomogenkan dengan ose bulat steril, maka disimpulkan koagulase positif (Abera *et al.*, 2010).

### c. Uji VP

Uji VP digunakan untuk mendeteksi asetoin yang dihasilkan bakteri setelah 2x24 jam inkubasi. Adanya kekeruhan menandakan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan produk asetoin ditunjukkan dengan adanya perubahan warna menjadi merah setelah dilakukan penambahan reagent KOH 40% dan *-naphthol* 5% (Hemraj *et al.*, 2013).

### d. Interpretasi Hasil

Hasil positif pada uji katalase dan koagulase menjadi salah satu parameter identifikasi *Staphylococcus aureus*. Selain itu, fermentasi manitol positif (pada media MSA), serta produksi asetoin positif juga menunjukkan adanya *Staphylococcus aureus*.

## Hasil Dan Pembahasan

Hasil identifikasi menunjukkan ada sebanyak 9 sampel abon sapi tidak bermerk yang terkontaminasi *Staphylococcus aureus* (Tabel 1). Hasil tersebut diperoleh berdasarkan pengamatan morfologi dengan pewarnaan Gram (Gambar 1), hasil fermentasi manitol (Gambar 2), uji katalase (Gambar 3) dan koagulase (Gambar 4), serta uji VP (Gambar 5).

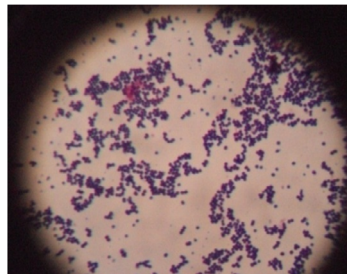
Adapun faktor yang mempengaruhi adanya kontaminasi abon dapat disebabkan oleh beberapa kemungkinan, yaitu pengambilan bahan dasar abon yang kurang baik serta proses pembuatan abon yang menggunakan alat-alat rumah tangga yang tidak bersih, penanganan, dan pengolahan yang kurang baik. Selain itu, kontaminasi juga dapat terjadi karena pengolahan makanan dengan tangan kotor, makanan yang disimpan tanpa tutup dan lembab, pengolah makanan dalam kondisi sakit, serta kondisi lingkungan tempat pemasaran yang tercemar (kotor).

*Staphylococcus aureus* adalah suatu bakteri yang memproduksi enterotoksin penyebab keracunan (Lowder *et al.*, 2009). Keracunan ditandai dengan gejala mual, muntah, kejang perut, bahkan sampai diare. Bakteri tersebut sering ditemukan pada makanan-makanan, merupakan bakteri *coccus* Gram positif, dan termasuk dalam family Micrococcaceae. Tumbuh secara anaerobik fakultatif dengan membentuk kumpulan sel-sel seperti buah anggur dan umum dijadikan indikator higienitas pengolahan makanan. *Staphylococcus aureus* tahan terhadap kadar garam dan memproduksi koagulase (Ahmetagic *et al.*, 2013; Frey *et al.*, 2013). Uji koagulase dapat dijadikan sarana identifikasi dan penentuan spesies *Staphylococcus aureus* (Keteete *et al.*, 2010).

**Tabel 1. Hasil Identifikasi *Staphylococcus aureus* pada Abon Sapi**

No	Abon Sapi	Morfologi Koloni		Macam Uji				Keterangan
		Warna/Sifat	Bentuk	MSA	VP	Katalase	Koagulase	
1	A	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
2	B	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
3	C	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
4	D	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
5	E	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
6	F	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
7	G	-	-	-	-	-	-	-
8	H	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
9	I	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>
10	J	U/GP	<i>Coccus</i>	FM+	+	+	+	<i>S. aureus</i>

Keterangan: FM+: Fermentasi manitol positif; GP: Gram positif; MSA: Manitol Salt Agar; U: berwarna ungu, -: tidak ada pertumbuhan pada NaCl Broth


**Gambar 1. Hasil Pewarnaan Gram *Staphylococcus aureus***

### 1. Morfologi Koloni

Pewarnaan Gram menjadi salah satu cara mengetahui morfologi koloni bakteri. *Staphylococcus aureus* diketahui sebagai bakteri Gram positif yang berbentuk *coccus* berwarna ungu (Gambar 1) (Sindhu *et al.*, 2010; Adejuwon *et al.*, 2011). Selain itu, bakteri Gram positif memiliki ciri umum berupa dinding sel (peptidoglikan) yang lebih tebal (20-80 nm) dibandingkan bakteri Gram negatif. Hal tersebut yang mengakibatkan *Staphylococcus aureus* memiliki tingkat pertumbuhan, tingkat infeksi, dan pola resistensi yang tinggi dibandingkan dengan bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* (Lykov *et al.*, 2017).

### 2. Fermentasi Manitol

*Manitol Salt Agar* menjadi media uji fermentasi manitol. Adanya fermentasi manitol ditandai dengan perubahan warna media yang semula merah menjadi kuning (Adejuwon *et al.*,

2011) akibat adanya penurunan pH menjadi asam (Karimela dkk, 2017). Hasil penelitian menunjukkan *Staphylococcus aureus* yang didapat memiliki kemampuan fermentasi manitol sempurna (media menjadi kuning keseluruhan) dengan koloni berwarna putih (Gambar 2).


**Gambar 2. Uji fermentasi manitol positif pada MSA**

### 3. Uji Katalase

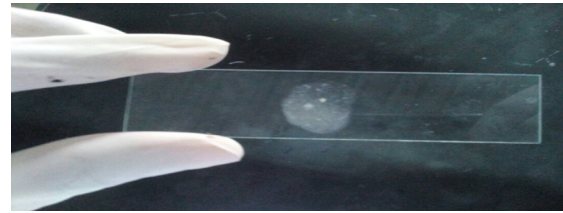
Uji katalase digunakan untuk membedakan genus *Staphylococcus* dan *Streptococcus* (Todar, 2005; Karimela dkk, 2017). Gelembung udara yang terbentuk pada uji katalase (Gambar 3) menunjukkan hasil katalase positif untuk *Staphylococcus* (Sindhu *et al.*, 2010) merupakan hasil hidrolisis  $H_2O_2$  menjadi molekul air dan oksigen (Hemraj *et al.*, 2013). Hidrolisis  $H_2O_2$  distimulasi oleh enzim katalase yang terletak pada permukaan membran sel bakteri *Staphylococcus* (Hemraj *et al.*, 2013; Yurdakul *et al.*, 2013). Reaksi tersebut berlangsung sebagai mekanisme pertahanan diri bakteri terhadap  $H_2O_2$  yang bersifat toksik (Locke *et al.*, 2012).



Gambar 3. Uji Katalase

### 4. Uji Koagulase

*Staphylococcus aureus* umumnya memiliki hasil uji koagulase positif, namun ada pula yang menunjukkan hasil negatif. Berdasarkan hasil penelitian Yurdakul *et al.* (2013) menyatakan bahwa hasil negatif menunjukkan bahwa *Staphylococcus* oportunistik. Pada penelitian ini, dihasilkan koagulase positif yang ditunjukkan dengan adanya presipitasi (gumpalan) (Gambar 4). Uji koagulase slide (*Slide Coagulase Test/ SCT*) dilakukan dengan mendeteksi adanya faktor penggumpalan yang bereaksi secara langsung dengan fibrinogen yang terikat pada plasma (McAdow *et al.*, 2011) sehingga didapatkan hasil yang lebih cepat dibandingkan uji koagulase tabung (*Tube Coagulase Test/ TCT*) (Kateete *et al.*, 2010).



Gambar 4. Uji Koagulase

### 6. Uji VP

Deteksi asetoin melalui uji VP dilakukan dengan penambahan reagent KOH 40% dan  $\alpha$ -naphthol 5%. Hasil penelitian menunjukkan 9 sampel positif dengan terbentuknya cincin berwarna merah pada bagian atas media (Gambar 5). Uji tersebut ditentukan oleh kemampuan bakteri membentuk asetoin (asetiletikarbinol) melalui pemecahan glukosa. Asetoin selanjutnya bereaksi dengan  $\alpha$ -naphthol 5% dan KOH 4% sehingga menghasilkan warna merah pada media (Hemraj *et al.*, 2013).



Gambar 5. Uji VP positif ditunjukkan dengan adanya cincin merah di bagian atas media

### Simpulan

Abon sapi yang dijual di Pasar Pahing Kota Kediri positif terkontaminasi *Staphylococcus aureus* dengan persentase 90%.

### Daftar Pustaka

- Abera, M., Demie, B., Aragaw, K., Regassa, F., & Regassa, A. (2010). Isolation and identification of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitic milk and their drug resistance patterns in Adama town, Ethiopia. *Journal of Veterinary Medicine and Animal Health*, 2(3), 29–34.
- Adejuwon, A. O., Ogunkanmbi, D., Adejumo, M., & Johnson, B. (2011). *Staphylococcus aureus* isolated from septic caesarean wound at Ile Ife Nigeria: Antibiotics susceptibility patterns. *International Journal of Medicine and Medical Sciences*, 3(5), 149–154.
- Ahmetagic, A., Fatima, N., Sead, A., Rakovac-Tupkovic, L., & Porobic-Jahic, H. (2013). Etiology of peritonitis. *Journal Medical Archives*, 64(4), 278–281.
- Frey, Y., Rodriguez, J. P., Thomann, A., Schwendener, S., & Perreten, V. (2013). Genetic characterization of antimicrobial resistance in coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis milk. *Journal of Dairy Science*, 96(4), 2247–2257. <https://doi.org/10.3168/JDS.2012-6091>
- Hemraj, V., Diksha, S., & Avneet, G. (2013). A review on commonly used biochemical test for bacteria. *Innovare Journal of Life Science*, 1(1), 1–7. Retrieved from <http://innovareacademics.in/journals/index.php/ijls/article/viewFile/30/36>
- Jiwintarum, Y., Srigele, L., & Rahmawati, A. (2018). Perbedaan Hasil Uji Koagulase Menggunakan Plasma Sitrat Manusia 3,8%, Plasma Sitrat Domba 3,8%, dan Plasma Sitrat Kelinci 3,8% pada Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Prima*, 9(2), 1559–1569. <https://doi.org/10.32807/JKPV9I2.77>
- Karimela, E. J., Ijong, F. G., & Dien, H. A. (2017). Karakterisasi *Staphylococcus aureus* yang Diisolasi dari Ikan Asap Pinekuhe Hasil Olahan Tradisional Kabupaten Sangihe. *Jphpi*, 20(1), 188–198. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2017.20.1.356>
- Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., ... Najjuka, F. C. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 9(1), 23. <https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-23>
- Locke, T., Keat, S., Walker, A., & Mackinnon, R. (2012). *Microbiology and Infectious Diseases on The Move* (First Edit). London: CRC Press.
- Lowder, B. V., Guinane, C. M., Ben Zakour, N. L., Weinert, L. A., Conway-Morris, A., Cartwright, R. A., ... Fitzgerald, J. R. (2009). Recent human-to-poultry host jump, adaptation, and pandemic spread of *Staphylococcus aureus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(46), 19545–19550. <https://doi.org/10.1073/pnas.0909285106>
- Lykov, A., Gaidul, K., Goldina, I., Konenkov, V., Kozlov, V., Lyakhov, N., & Dushkin, A. (2017). Silica Nanoparticles as a Basis for Efficacy of Antimicrobial Drugs. *Nanostructures for Antimicrobial Therapy*, 551–575. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46152-8.00025-1>
- McAdow, M., Kim, H. K., DeDent, A. C., Hendrickx, A. P. A., Schneewind, O., & Missiakas, D. M. (2011). Preventing *Staphylococcus aureus* Sepsis through the Inhibition of Its Agglutination in Blood. *PLoS Pathogens*, 7(10), e1002307. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002307>
- Rahayu, N. P. N., Kawuri, R., & Suriani, N. L. (2014). Uji Keberadaan *Staphylococcus aureus* pada Sosis Tradisional (Urutan) yang Beredar Di Pasar Tradisional Di Denpasar, Bali. *SIMBIOSIS*, 2(1). Retrieved from <https://ojs.unud.ac.id/index.php/simbiosis/article/view/9497>
- S., S., Khusnan, & Sugiyono. (2009). Distribusi gen enterotoksin *Staphylococcus aureus* dari susu

- segar dan pangan asal hewan. *Jurnal Veteriner*, 10, 111–117.
- Sindhu, N., Sharma, A., & Jain, V. K. (2010). Coagulase gene based molecular detection of *Staphylococcus aureus* directly from mastitic milk samples of murrah buffalo. *Buffalo Bulletin*, 29(1), 62–69.
- Thomer, L., Schneewind, O., & Missiakas, D. (2016). Pathogenesis of *Staphylococcus aureus* Bloodstream Infections. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 11(1), 343–364. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-012615-044351>
- Todar, K. (2005). *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Retrieved June 19, 2019, from <http://textbookofbacteriology.net/>
- Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
- Windria, S., Widianingr, D. C., & Salasia, S. I. O. (2016). Identification of *Staphylococcus aureus* and Coagulase Negative Staphylococci Isolates from Mastitis Milk of Etawa Crossbred Goat. *Research Journal of Microbiology*, 11(1), 11–19. <https://doi.org/10.3923/jm.2016.11.19>
- Yulvizar, C. (2013). Isolation and Identification of Probiotic Bacteria In *Rastrelliger* sp. *Biospecies*, 6(2), 1–7.
- Yurdakul, N. E., Erginkaya, Z., & Unal, E. (2013). Antibiotik Resistance of Enterococci, *Staphylococcus aureus* Isolated from Chicken Meat Czech. *Journal Food Sci*, 31(1), 14–19.