

Deteksi Molekuler *Staphylococcus aureus* yang Resisten Terhadap Panas pada Susu dan Produknya

Skripsi



Stephani Valentina Harda Sutejo

31130002

Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Yogyakarta

2017

Deteksi Molekuler *Staphylococcus aureus* yang Resisten Terhadap Panas pada Susu dan Produknya

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



Stephani Valentina Harda Sutejo

31130002

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2017**

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Stephani Valentina Harda Sutejo

NIM : 31130002

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Deteksi Molekuler *Staphylococcus aureus* yang Resisten Terhadap Panas pada Susu dan Produknya”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, 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 orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 12 Juni 2017



Stephani Valentina Harda Sutejo

Lembar Pengesahan

Skripsi dengan judul:

**DETEKSI MOLEKULER *Staphylococcus aureus* YANG RESISTEN TERHADAP PANAS PADA
SUSU DAN PRODUKNYA**

Telah diajukan dan dipertahankan oleh:

STEPHANI VALENTINA HARDA SUTEJO

31130002

Dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

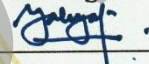
dan dinyatakan **DITERIMA** untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar

Sarjana Sains pada tanggal 8 Juni 2017

Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Tri Yahya Budiarmo, S.Si., M.P
(Dosen Pembimbing I / Penguji / Ketua Tim)

: 

2. Dr. Charis Amarantini, M.Si
(Dosen Pembimbing II / Dosen Penguji)

: 

3. Dr. Dhira Satwika, M.Sc
(Dosen Penguji)



: 


Yogyakarta, 12 Juni 2017

Disahkan Oleh:


Dekan,

Ketua Program Studi,



Drs. Kisworo, M.Sc


Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si

KATA PENGANTAR

Puji Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat-Nya sehingga penelitian dan penulisan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat pada waktunya. Skripsi dengan judul “**Deteksi Molekuler *Staphylococcus aureus* yang Resisten Terhadap Panas pada Susu dan Produknya**” disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains (S.Si).

Penulis menyadari penyelesaian proses pembuatan laporan ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan semangat dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. **Tuhan Yesus Kristus** atas penyertaan dan berkat-Nya sampai penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
2. **Drs. Kisworo, M.Sc**, selaku Dekan Fakultas Bioteknologi.
3. **Tri Yahya Budiarmo, S.Si, M.P.** selaku Dosen Pembimbing serta Dosen penguji I yang sudah memberikan pengarahan, dukungan, dan kesabaran, serta bersedia meluangkan waktu sehingga penelitian skripsi ini dapat terselesaikan.
4. **Dr. Charis Amarantini, M.Si**, selaku pembimbing II serta Dosen Penguji II.
5. **Dr. Dhira Satwika, M.Sc**, selaku Dosen Penguji III.
6. Keluarga saya **Papi, Mami** dan **Stephina** yang selalu memberikan doa dan support baik secara materi maupun rohani.
7. Laboran : **Dewi Andini** dan **Hari Surahmanto** yang selalu membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
8. Sahabat yang selalu memberi semangat dan teman-teman Bioteknologi angkatan 2013, serta orang yang saya kasihi yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Demikian skripsi ini disusun, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Diharapkan kritik dan saran, serta semoga bermanfaat bagi pembaca.

Yogyakarta, 12 Juni 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
Bab I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
Bab II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Morfologi <i>S. aureus</i>	3
2.2 Sumber Kontaminasi <i>S. aureus</i> pada Susu	4
2.3 Karakterisasi Biokimia dan Molekuler <i>S. aureus</i>	5
2.4 Gen <i>nuc</i>	7
Bab III METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.	10
3.2 Alat	10
3.3 Bahan	10
3.4 Cara Kerja	10
3.4.1 Preparasi alat dan bahan	10
3.4.2 Isolasi Bakteri	10
3.4.3 Tahap <i>pre-</i> dan <i>enrichment</i>	11
3.4.4 Tahap isolasi dan seleksi.....	11
3.4.5 Tahap konfirmasi biokimiawi (menggunakan API Staph)	11
3.4.6 Identifikasi gen <i>nuc</i> (menggunakan PCR)	12
Bab IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Profil <i>S. aureus</i> dari Berbagai Jenis Susu	14
4.2 Seleksi dan Identifikasi <i>S. aureus</i> Secara Biokimia pada Produk Susu	15
4.3 Identifikasi <i>S. aureus</i> Secara Biokimia pada Medium Fermentasi Karbohidrat dari Produk Susu.	16
4.4 Identifikasi <i>S. aureus</i> Secara Biokimia dengan Uji Katalase dan Pengecatan Gram.	17
4.5 Uji Konfirmasi Identitas <i>S. aureus</i> Menggunakan API Staph.....	17
4.6 Deteksi Gen <i>nuc</i> Menggunakan PCR.....	18
Bab V KESIMPULAN DAN SARAN	20
5.1 Kesimpulan	20
5.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN.....	24

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Karakter Biokimia <i>Staphylococcus</i> sp. pada Uji Fermentasi Karbohidrat.....	6
2. Uji Fermentasi Substrat Karbohidrat pada Isolat dari Produk Susu	16

©UKDW

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Morfologi <i>S. aureu</i>	3
2. Analisa Resiko <i>S. aureus</i> dalam Susu dari Peternakan untuk Dikonsumsi	5
3. Tahapan Kegiatan	13
4. Koloni <i>Opaque Zone</i> yang Dimurnikan dan Ditumbuhkan pada Medium BPA dengan Menggunakan Metode <i>Streak Plate</i>	14
5. Koloni Terduga <i>S. aureus</i> dan Koloni Terduga <i>S. caprae</i> yang Ditumbuhkan pada Medium MSA secara <i>Streak Plate</i>	15
7. Uji Fermentasi Isolat Menunjukkan Sifat Biokimia <i>S. aureus</i>	16
8. Uji Fermentasi Isolat Menunjukkan Sifat Biokimia <i>S. caprae</i>	16
9. Hasil Pewarnaan Gram Isolat yang Terduga <i>S. aureus</i> (Perbesaran 1000x).....	17
10. Hasil Uji API-Staph Isolat.....	18
11. Input Data pada API Web	18
12. Hasil Identifikasi dan Konfirmasi Isolat SKMF.2.1.2 Menggunakan API Staph pada API Web	18
13. Hasil PCR gen <i>nuc</i>	19

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Bagan Alir Cara Kerja Penelitian	25
2. Bagan Alir Cara Kerja Uji Konfirmasi Menggunakan API Staph	26
3. Cara Kerja Isolasi DNA	27
4. Hasil Pertumbuhan Koloni <i>S. aureus</i> pada Medium BPA.....	29
5. Hasil Uji Fermentasi Mannitol Isolat Terduga <i>S. aureus</i>	31
6. Hasil Uji Fermentasi pada Substrat Karbohidrat Isolat Terduga <i>S. aureus</i> di Produk Susu.....	32
7. Hasil Uji Katalase Isolat Terduga <i>S. aureus</i> di Produk Susu.....	33
8. Hasil Identifikasi <i>Staphylococcus</i> sp. secara Biokimia	34
9. Foto Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat Berbagai Jenis <i>Staphylococcus</i>	36
10. Foto Pengecatan Gram Berbagai Jenis <i>Staphylococcus</i>	38
11. Hasil Api Staph Isolat <i>Staphylococcus</i>	40

Deteksi Molekuler *Staphylococcus aureus* yang Resisten Terhadap Panas pada Susu dan Produknya

STEPHANI VALENTINA HARDA SUTEJO

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRAK

Kontaminasi pada susu yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* selalu terjadi sepanjang tahun dan dapat menyebabkan keracunan pada susu. Kasus ini dapat terjadi karena faktor kebersihan, kondisi lingkungan yang tidak bersih, proses pengolahan, pengemasan dan penyimpanan yang tidak steril. Selain itu, kandungan gizi pada susu juga dapat mendukung pertumbuhan *S. aureus* yang dapat memproduksi *staphylococcal enterotoxin* dan berdampak pada pencernaan. Sintesis toksin yang dihasilkan oleh kelompok *Staphylococcus* dipengaruhi oleh faktor pemanasan susu yang tidak tepat. Selain itu, *S. aureus* juga memiliki gen *Nuc* yang berperan terhadap sifat resistensi terhadap panas. Gen tersebut mengkode enzim *thermonuclease* (TNase) atau enzim yang bersifat termostabil. Gen *nuc* dapat dideteksi pada produk makanan yang sudah melewati proses pengolahan di suhu tinggi seperti produk susu yang sudah melalui tahap sterilisasi maupun pasteurisasi. Pada penelitian ini dilakukan deteksi *S. aureus* yang resisten terhadap panas melalui tahap isolasi *S. aureus* yang dilakukan pada medium selektif diferensial menggunakan medium BPA (*Baird Parker Agar*) dan MSA (*Mannitol Salt Agar*) dan identifikasi secara biokimia dan molekuler. Identifikasi biokimiawi dilakukan dengan pengujian fermentasi karbohidrat dan dikonfirmasi menggunakan API Staph, sedangkan identifikasi molekuler dilakukan dengan deteksi gen *nuc*. Hasil isolat tersebut, terkonfirmasi sebagai *S. aureus* dengan persentase ID sebesar 97,7% dan 97,1%. Isolat tersebut juga terdeteksi memiliki gen *nuc* berbasis amplicon sepanjang 270 bp. Hasil deteksi pada berbagai jenis produk susu yang diteliti, diketahui bahwa produk susu kental manis, susu formula, susu kafe/PKL dan susu murni masih terdapat *S. aureus* yang resisten terhadap panas dan terdeteksi dengan adanya gen *nuc*. Dengan ditemukannya gen *nuc* pada isolat *S. aureus*, mengindikasikan pentingnya monitoring yang dilakukan sejak awal proses pemerahan di tingkat peternak sampai proses pengolahan di industri dengan metode yang tepat dan akurat.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, gen *nuc*, molekuler, susu dan produknya

Molecular Detection of *Staphylococcus aureus* that Resistant to Heat from Milk and Its Products

STEPHANI VALENTINA HARDA SUTEJO

ABSTRACT

Contamination in milk caused by the Staphylococcus aureus always happen throughout the year and cause milk poisoning milk. These cases may occur due to hygiene, environmental conditions is bad, processing, packaging and storage that are not sterile. In addition, the nutrient content in milk can also support the growth of S. aureus which can produce staphylococcal enterotoxin and have an impact on digestion. Synthesis of toxin produced by Staphylococcus family influenced by improper milk heating factors. In addition, S. aureus also has the nuc gene that resistance to heat. These genes encoded thermonuclease enzymes (TNase) or thermostabile enzyme on the process of processing at high temperatures. Nuc gene can be detected in food products that have already gone through the process sterilization or pasteurization. This research was detection of S. aureus that are resistant to heat through the isolation of S. aureus on selective differential medium such as Baird Parker Agar and Mannitol Salt Agar and biochemical and molecular identification. Biochemistry identification use testing the fermentation of carbohydrates and confirmed using API Staph, whereas the molecular identification of gene detection is performed with the nuc gene using nuc gene primer. The results of the test by API Staph for identification of the isolates, confirmed as S. aureus with ID percentage of 97.7% and 97.1%. Isolates were also detected to have nuc gene based amplicon in 270 bp. The results of detection on various types of dairy products are examined, it is known that a product sweetened condensed milk, formula milk, cafe/street vendors milk and raw milk contained Staphylococcus aureus is detected by the existence of nuc gene. Impurities are very important monitoring carried out since the beginning of the process of milking at the level of the breeder to processing in the industry with the right and accurate method.

Keywords: *Staphylococcus aureus, nuc gene, molecular, milk and the product*

Deteksi Molekuler *Staphylococcus aureus* yang Resisten Terhadap Panas pada Susu dan Produknya

STEPHANI VALENTINA HARDA SUTEJO

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

ABSTRAK

Kontaminasi pada susu yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* selalu terjadi sepanjang tahun dan dapat menyebabkan keracunan pada susu. Kasus ini dapat terjadi karena faktor kebersihan, kondisi lingkungan yang tidak bersih, proses pengolahan, pengemasan dan penyimpanan yang tidak steril. Selain itu, kandungan gizi pada susu juga dapat mendukung pertumbuhan *S. aureus* yang dapat memproduksi *staphylococcal enterotoxin* dan berdampak pada pencernaan. Sintesis toksin yang dihasilkan oleh kelompok *Staphylococcus* dipengaruhi oleh faktor pemanasan susu yang tidak tepat. Selain itu, *S. aureus* juga memiliki gen *Nuc* yang berperan terhadap sifat resistensi terhadap panas. Gen tersebut mengkode enzim *thermonuclease* (TNase) atau enzim yang bersifat termostabil. Gen *nuc* dapat dideteksi pada produk makanan yang sudah melewati proses pengolahan di suhu tinggi seperti produk susu yang sudah melalui tahap sterilisasi maupun pasteurisasi. Pada penelitian ini dilakukan deteksi *S. aureus* yang resisten terhadap panas melalui tahap isolasi *S. aureus* yang dilakukan pada medium selektif diferensial menggunakan medium BPA (*Baird Parker Agar*) dan MSA (*Mannitol Salt Agar*) dan identifikasi secara biokimia dan molekuler. Identifikasi biokimiawi dilakukan dengan pengujian fermentasi karbohidrat dan dikonfirmasi menggunakan API Staph, sedangkan identifikasi molekuler dilakukan dengan deteksi gen *nuc*. Hasil isolat tersebut, terkonfirmasi sebagai *S. aureus* dengan persentase ID sebesar 97,7% dan 97,1%. Isolat tersebut juga terdeteksi memiliki gen *nuc* berbasis amplicon sepanjang 270 bp. Hasil deteksi pada berbagai jenis produk susu yang diteliti, diketahui bahwa produk susu kental manis, susu formula, susu kafe/PKL dan susu murni masih terdapat *S. aureus* yang resisten terhadap panas dan terdeteksi dengan adanya gen *nuc*. Dengan ditemukannya gen *nuc* pada isolat *S. aureus*, mengindikasikan pentingnya monitoring yang dilakukan sejak awal proses pemerahan di tingkat peternak sampai proses pengolahan di industri dengan metode yang tepat dan akurat.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, gen *nuc*, molekuler, susu dan produknya

Molecular Detection of *Staphylococcus aureus* that Resistant to Heat from Milk and Its Products

STEPHANI VALENTINA HARDA SUTEJO

ABSTRACT

Contamination in milk caused by the Staphylococcus aureus always happen throughout the year and cause milk poisoning milk. These cases may occur due to hygiene, environmental conditions is bad, processing, packaging and storage that are not sterile. In addition, the nutrient content in milk can also support the growth of S. aureus which can produce staphylococcal enterotoxin and have an impact on digestion. Synthesis of toxin produced by Staphylococcus family influenced by improper milk heating factors. In addition, S. aureus also has the nuc gene that resistance to heat. These genes encoded thermonuclease enzymes (TNase) or thermostabile enzyme on the process of processing at high temperatures. Nuc gene can be detected in food products that have already gone through the process sterilization or pasteurization. This research was detection of S. aureus that are resistant to heat through the isolation of S. aureus on selective differential medium such as Baird Parker Agar and Mannitol Salt Agar and biochemical and molecular identification. Biochemistry identification use testing the fermentation of carbohydrates and confirmed using API Staph, whereas the molecular identification of gene detection is performed with the nuc gene using nuc gene primer. The results of the test by API Staph for identification of the isolates, confirmed as S. aureus with ID percentage of 97.7% and 97.1%. Isolates were also detected to have nuc gene based amplicon in 270 bp. The results of detection on various types of dairy products are examined, it is known that a product sweetened condensed milk, formula milk, cafe/street vendors milk and raw milk contained Staphylococcus aureus is detected by the existence of nuc gene. Impurities are very important monitoring carried out since the beginning of the process of milking at the level of the breeder to processing in the industry with the right and accurate method.

Keywords: *Staphylococcus aureus, nuc gene, molecular, milk and the product*

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Insiden keracunan makanan yang disebabkan oleh *S. aureus* selalu terjadi di berbagai negara sejak tahun 1880 sampai saat ini. *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) melaporkan adanya kasus keracunan makanan akibat kontaminasi *S. aureus* dalam kurun waktu 1880-1938 terjadi setiap tahun sebanyak 29 kasus (33%) di Amerika Serikat dan 45 % di Kanada. Pada tahun 1969-1983 terjadi di Inggris, Amerika Serikat, Pakistan, Skotlandia dan Malaysia dengan 359 kasus. Keracunan juga terjadi pada tahun 1986-1999 sebanyak 328 orang di Amerika Serikat, Jepang, Spanyol dan Brazil (Yang *et al.* 2007). Pada tahun 2000-2005 terdapat lebih dari 14.000 orang di Jepang, Norwegia, Brazil, Saudi Arabia, Norway dan Amerika Serikat. Pada tahun 2006-2010 terjadi keracunan yang menyebabkan 49.000 orang sakit dan 46 mengalami kematian (Ding *et al.* 2016). Pada periode tahun 2012-2015 kasus keracunan makanan sebanyak 78% masih terjadi di Amerika Serikat, Australia, India dan Jerman (Riyaz-UI-Hassan *et al.* 2008). Tingginya kasus keracunan makanan tiap tahun dikarenakan kontaminasi *S. aureus* yang terjadi secara sporadis, umumnya dikarenakan mengkonsumsi susu dan produknya. Tingkat cemaran pada susu segar, susu rendah lemak, susu skim, yoghurt dan *bovine mastitis milk* sekitar 76,3%. Gejala keracunan ditandai dengan *diarrhea, vomiting, dizziness, chills and headaches* (Mhone *et al.* 2011).

Kontaminasi *S. aureus* pada susu tidak dapat dihindari karena berada pada kulit manusia dan selaput lendir mamalia sehingga saat pemerahan terbawa ke susu (Yang *et al.* 2007). Susu mengandung zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh seperti kalsium, fosfor, vitamin A, vitamin B, dan riboflavin yang tinggi serta kandungan protein, glukosa, lipida, garam mineral, dan vitamin (Sahputra *et al.* 2016). Kandungan zat gizi tersebut dapat memicu pertumbuhan mikroorganisme yang dapat menghasilkan toksin seperti enterotoksin yang dapat menimbulkan keracunan. Susu memiliki pH sekitar 6,80 – 7,4 serta suhu 37°C (aerob fakultatif) yang dapat mendukung pertumbuhan *S. aureus* sehingga dapat menghasilkan toksin dan mengakibatkan keracunan. Toksin tidak rusak saat dipanaskan disuhu 140°C sehingga keracunan dapat terjadi (Yang *et al.* 2007). Menurut Gaman & Sherrington (1992) toksin masih dapat bertahan pada suhu 100°C selama 30 menit.

S. aureus juga memiliki gen *nuc* yang resisten terhadap panas sehingga gen tersebut tidak akan rusak pada proses pengolahan di suhu tinggi. Gen *nuc* dapat dideteksi pada produk makanan yang sudah melewati proses pengolahan suhu tinggi seperti produk susu yang sudah melalui tahap pemanasan seperti sterilisasi maupun pasteurisasi. Metode berbasis molekular dapat digunakan untuk mendapatkan hasil secara akurat dan dapat mengidentifikasi adanya gen *nuc* pada *S. aureus* lebih cepat. *S. aureus* menghasilkan *thermostable nuclease* ekstraseluler yang dikode oleh gen *nuc*. Gen *nuc* merupakan salah satu karakteristik yang paling membedakan dan paling spesifik untuk dapat membedakan *S. aureus* dari jenis *Staphylococcus* spp. yang lain (Sahebnaasagh *et al.*, 2014). Sedangkan menurut Brakstad *et al.*, (1992) gen *nuc* merupakan gen yang dapat mengkode TNase (*thermonuclease*) atau enzim yang bersifat termostabil pada proses pengolahan suhu tinggi. Sehingga kontaminasi *S. aureus* masih dapat berada pada produk susu meskipun sudah diolah dengan suhu tinggi karena bakteri tersebut dapat mengkode enzim *thermonuclease* yang dapat terdeteksi dalam produk susu.

Produk susu yang dijual di pasaran maupun di daerah Yogyakarta sudah melalui proses pemanasan. Namun, proses pemanasan yang dilakukan masih belum optimal sehingga gen *nuc* masih dapat terdeteksi. Hal ini mendorong penulis untuk melakukan deteksi *Staphylococcus aureus* terhadap produk susu UHT (*Ultra High Temperature*), susu steril, susu kental manis

yang proses pemanasannya menggunakan suhu dan waktu yang berbeda. Pada penelitian ini juga menggunakan isolat susu formula, susu kafe/PKL dan susu murni yang berasal dari penelitian sebelumnya yang sudah dideteksi dengan *staphylococcal enterotoksin A*.

1.2 Perumusan Masalah

S. aureus dapat menghasilkan enterotoksin yang akan terbawa hingga ke produk susu yang dapat menyebabkan keracunan pada konsumen. Enterotoksin tersebut bersifat termostabil karena memiliki gen *nuc* yang membuat toksin tersebut dapat bertahan pada suhu tinggi. Keberadaan gen *nuc* pada produk susu menjadi menarik untuk diteliti karena dapat digunakan sebagai penanda yang spesifik adanya cemaran *S. aureus* sehingga bakteri jenis lain tidak dapat tertarget. Bakteri ini dapat menghasilkan enzim termonuklease yang bersifat termostabil pada proses pengolahan suhu tinggi yang dapat ditandai dengan gen *nuc*. Proses pengolahan pada produk susu di Indonesia sudah menggunakan suhu tinggi, namun masih memerlukan pengujian adanya cemaran *S. aureus* yang dapat dideteksi dengan adanya gen *nuc* sehingga dapat diketahui produk susu yang beredar di pasaran aman atau tidak layak untuk dikonsumsi.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi dan identifikasi secara biokimia terhadap cemaran *S. aureus* pada susu dan produknya yang sudah melalui proses pemanasan dengan suhu tinggi, serta karakterisasi secara molekuler dengan deteksi gen *nuc* yang mengkode enzim *thermonuclease* yang dimiliki oleh *S. aureus*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini berguna untuk mendeteksi dan identifikasi *S. aureus* yang resisten terhadap panas pada susu dan produknya, sehingga dapat diketahui keamanan produk pangan dan tingkat keamanan pangan dari susu dan produknya, serta menyimpan isolat *S. aureus* yang berasal dari produk susu UHT (*Ultra High Temperature*), susu steril dan susu kental manis.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

S. aureus tidak dapat ditemukan pada produk susu UHT (*Ultra High Temperature*) dan pada produk susu steril. Namun, *S. aureus* masih dapat ditemukan pada produk susu kental manis. Berdasarkan uji biokimia, diketahui bahwa *S. aureus* dapat memfermentasikan media maltose, trehalosa, sukrosa, VP (*acetoin production*), galaktosa dan mannitol. Hasil ini diperkuat dengan konfirmasi menggunakan API Staph dengan persentase ID sebesar 97,7% dan 97,1%. Isolat *S. aureus* yang berasal dari penelitian sebelumnya juga positif memiliki *staphylococcal enterotoksin A* seperti susu formula, susu kafe/PKL dan susu murni sudah dideteksi secara molekular menggunakan gen *nuc* dan menunjukkan hasil positif resisten terhadap panas karena dapat mengkode enzim *thermonuclease* yang dimiliki oleh *S. aureus*.

5.2 SARAN

Dengan terdeteksinya gen *nuc*, maka diperlukan proses pengolahan dengan suhu yang tepat pada produk susu kental manis, susu murni, susu formula dan susu PKL/kafe agar tidak terdapat cemaran *S. aureus* yang berdampak bagi kesehatan konsumen.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Tabib H. *et al.*, 2013. Comparative Evaluation of Three Different Methods of Genomic DNA Extraction for *Staphylococcus aureus*. *World Appl Journal of Science* ISSN 1818-4952. Accessed 24 Juli 2015
- Ali, R. *et al.*, 2014. Role of Polymerase Chain Reaction (PCR) in the detection of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 15(3), pp.293–298. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmhg.2014.05.003>.
- Argudín MÁ, Mendoza MC and Rodicio MR.(2010). Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751–1773. <http://doi.org/10.3390/toxins2071751>
- Aziz, F. *et al.*, 2014. Genetic Determination and Clonal Relationships of *Staphylococcus aureus* Isolated from Dairy Cows in Baturraden , Central Java , Indonesia. *Indonesian Journal of Biotechnology*, 19(2), pp.121–128.
- Becker, K. *et al.*, 2005. Thermonuclease gene as a target for specific identification of *Staphylococcus intermedius* isolates: Use of a PCR-DNA enzyme immunoassay. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 51(4), pp.237–244.
- Brakstad, O.D.D.G. *et al.*, 1992. Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the nuc Gene. *Journal of Clinical Microbiology*, pp.1654–1660.
- Costa, A.M. *et al.*, 2005. Rapid detection of mecA and nuc genes in staphylococci by real-time multiplex polymerase chain reaction. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 51(1), pp.13–17.
- Da Silva, W. P., *et al.*, 2000. Biochemical characteristics of typical and atypical *Staphylococcus aureus* in mastitic milk and environmental samples of Brazilian dairy farms. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(2), 103–106. <http://doi.org/10.1590/S1517-83822000000200008>.
- Dedy Sahputra, T. Reza Ferasyi, Ismail, Razali, Sulasmi. 2016. ISOLASI BAKTERI COCCUS GRAM POSITIF DI DALAM SUSU ULTRA KEDALUWARSA Isolation of Gram-Positive Cocci Bacteria in Ultra High Temperature (UHT) Processed Milk at 6 and 3 Months Prior to Expiration. *Jurnal Medika Veterinaria*, 10(1), pp.6–8.
- Dewi NA & Budiarmo TY. 2014. Deteksi *Staphylococcus* sp pada Produk Susu Pasteurisasi di Kabupaten Sleman, Yogyakarta [skripsi]. Universitas Kritis Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]
- Ding, T. *et al.*, 2016. Farm to consumption risk assessment for *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins in fluid milk in China. *Food Control*, 59, pp.636–643. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.049>.
- Fox A. 2000. *Staphylococci: Microbiology and Immunology*. Bacteriology chapter 13, part 2: University of South Carolina School of Medicine. Carolina.
- Gaman, P.M. dan Sherrington, K.B. 1992. Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi. Edisi Kedua. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Giribaldi, M. *et al.*, 2016. Pasteurization of human milk by a benchtop High-Temperature Short-Time device. , 36, pp.228–233.

- Irwanto MI & Budiarmo TY. 2015. Karakterisasi Biokimia dan Molekuler Isolat *Staphylococcus aureus* dari Produk Susu Segar [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]
- Jay JM. 2000. Staphylococcal Gastroenteritis. In: Modern Food Microbiology, Aspen Publishers, Sixth Edition, Gaithersburg, MD, 23: 441-460.
- 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. doi:10.1186/1476-0711-9-23.
- Kim, C.H. *et al.*, 2001. Optimization of the PCR for detection of *Staphylococcus aureus* nuc gene in bovine milk. *J.Dairy Sci.*, 84(0022–0302 SB–IM), pp.74–83. Available at: c:%5CKarsten%5CPDFs%5CStaphylokokken-PDFs%5CStaph-2001%5CKim et al.-Optimization of the PCR for detection of *S.aureus* nuc gene in bovine milk.pdf.
- Marshall, R. T. (ed.).1993 . Standard methods for the microbiological examination of dairy products, 16Th. ed. American Public Health Association, Washington, D.C
- Mhone, T.A., *et al.*, 2011. Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology*, 151(2), pp.223–228. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.028>.
- Montanari, C. *et al.*, 2015. New insights in thermal resistance of staphylococcal strains belonging to the species *Staphylococcus epidermidis* , *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 50, pp.605–612. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.09.039>.
- Morandi S, Brasca M, Andrighetto C, Lombardi A and Lodi R.2009. Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains from Italian dairy products. *International Journal of Microbiology*, 2009. <http://doi.org/10.1155/2009/501362>
- Pelisser MR, Klein CS, Ascoli KR, Zotti TR and Arisil ACM. 2009. Occurrence of *Staphylococcus aureus* and multiplex PCR detection of classic enterotoxin genes in cheese and meat products. *Brazil J Microbiol* 40:145–148
- Palilu PT & Budiarmo TY. 2016. Isolasi dan Identifikasi Molekuler *Staphylococcus* sp. Penghasil Enterotoksin pada Susu Formula [skripsi]. Universitas Kristen Duta Wacana, Yogyakarta [Indonesia]
- Parker, ACB.1962. An improved diagnostic and selective medium for isolating coagulase-positive staphylococci. *J.Appl.Bacteriol.*25,12
- Pilla, R. *et al.*, 2013. Duplex real-time PCR assay for rapid identification of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cow milk. *The Journal of dairy research*, 80(2), pp.223–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23480508>.
- Proietti, P.C. *et al.*, 2010. Characterization of Genes Encoding Virulence Determinants and Toxins in *Staphylococcus aureus* from Bovine Milk in Central Italy. , pp.1443–1448.
- Riyaz-Ul-Hassan, S., *et al.*, 2008. Evaluation of three different molecular markers for the detection of *Staphylococcus aureus* by polymerase chain reaction. *Food Microbiology*, 25(3), pp.452–459.
- Sabike, I.I. *et al.*, 2014. Production of *Staphylococcus aureus* enterotoxin a in raw milk at high

temperatures. *Journal of food protection*, 77(9), pp.1612–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25198856>.

Sahebnaasagh, R., *et al.*, 2014. The Prevalence of Resistance to Methicillin in *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Patients by PCR Method for Detection of *mecA* and *nuc* Genes. , 43(1), pp.84–92.

Salasia, SIO., *et al.*, 2011. Science Genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from bovines , humans , and food in Indonesia. , 12, pp.353–361.

Vermassen, A. *et al.*, 2014. Transcriptomic analysis of *Staphylococcus xylosus* in the presence of nitrate and nitrite in meat reveals its response to nitrosative stress. 5(December), pp.1–15.

Wesley, E., 2017. Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin I . Amended Descriptions of *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus saprophyticus* and Descriptions of Three New Species : *Staphylococcus cohnii* , *Staphylococcus haemolyticus* (May), pp.50–61.

Yang, Y. *et al.*, 2007. Detection of *Staphylococcus aureus* in Dairy Products by Polymerase Chain Reaction Assay. *Agricultural sciences*, 6(7), pp.857–862.

©UKYDWN