

**Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi terhadap
Pertumbuhan Isolat *Staphylococcus aureus* pada
Produk Susu**

Skripsi



**Maria Nia Yaniarti
31130021**

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

Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi terhadap Pertumbuhan Isolat *Staphylococcus aureus* pada Produk Susu

Skripsi

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



Maria Nia Yaniarti
31130021

Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2017

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul :

**PENGARUH SUHU DAN WAKTU PASTEURISASI TERHADAP PERTUMBUHAN
ISOLAT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* PADA PRODUK SUSU**

telah diajukan dan dipertahankan oleh:


MARIA NIA YANIARTI
31130021

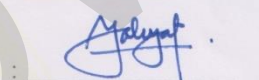
dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
dan dinyatakan DITERIMA untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar
Sarjana Sains pada tanggal 13 Oktober 2017

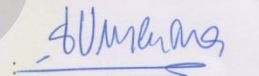
Nama Dosen

Tanda Tangan

1. Prof.drh.Widya Asmara, SU., Ph.D.
(Dosen Penguji/Ketua Penguji)
2. Tri Yahya Budiarmo, S.Si., MP.
(Dosen Pembimbing I/Dosen Penguji)
3. Dr. Charis Amarantini, M.Si.
(Dosen Pembimbing II/Dosen Penguji)








Yogyakarta, 13 Oktober 2017
Disahkan Oleh:

Dekan




Drs. Kisworo, M.Sc.

Ketua Program Studi



Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Maria Nia Yaniarti

NIM : 31130021

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi terhadap Pertumbuhan Isolat *Staphylococcus aureus* pada Produk Susu

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, 13 Oktober 2017



Maria Nia Yaniarti
Maria Nia Yaniarti

KATA PENGANTAR

Puji dan rasa syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat limpahan rahmat dan hidayahnya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi Terhadap Pertumbuhan Isolat *Staphylococcus aureus* Penghasil Enterotoksin Dari Berbagai Produk Susu.

Skripsi ini disusun sebagai salah satu persyaratan yang harus ditempuh untuk mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana Yogyakarta. Skripsi ini berhasil diselesaikan berkat bimbingan dan bantuan dari semua pihak. Untuk itu pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Orang tua yang tidak pernah lelah dalam mendidik, memberi kasih sayang, semangat dan dorongan untuk menyelesaikan skripsi ini.
2. Dekanat Fakultas Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana yang telah membantu penulis dalam menyusun skripsi.
3. Tri Yahya Budiarmo, S.Si., MP., selaku Dosen Pembimbing I yang telah memberi bimbingan, nasehat, masukan serta waktunya selama penelitian dan penulisan skripsi sehingga dapat menyelesaikan skripsi.
4. Dr. Charis Amarantini, M.Si sebagai Dosen Pembimbing ke-II yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan dalam menyelesaikan skripsi.
5. Seluruh Dosen Fakultas Bioteknologi untuk semua yang telah diberikan.
6. Laboran Mikrobiologi UKDW terimakasih untuk bantuan, waktu, dan bimbingan selama penelitian di Lab.
7. Natalia Kusumawati S, Gan Edytia N.C, Putrision S. Amnifu, Dea Inanditya R., yang telah setia menemani penulis dalam menyelesaikan skripsi.
8. Teman-teman Bioteknologi angkatan 2013. Terima kasih untuk kebersamaan kita.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	1
1.3.Tujuan Penelitian.....	1
1.4.Manfaat Penelitian.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	2
2.1.Profil <i>Staphylococcus aureus</i>	2
2.2.Enterotoksin	2
2.3.Kejadian Luar Biasa.....	3
2.4.Sifat Patogenesis <i>S. aureus</i>	4
2.5.Sifat Resistensi Terhadap Suhu Tinggi	4
BAB III BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....	6
3.1 Waktu dan Tempat	6
3.2 Sampel.....	6
3.3 Bahan Penelitian	6
3.4 Alat Penelitian.....	6
3.5 Tahap Penelitian.....	6
3.6 Perlakuan suhu dan waktu	7
3.7 Perhitungan Koloni	7
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	8
BAB V PENUTUP.....	13
5.1.Kesimpulan	13
5.2.Saran.....	13
DAFTAR PUSTAKA	14
LAMPIRAN.....	16

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tahap-tahap penelitian	6
Gambar 2. Hasil pertumbuhan <i>S. aureus</i> sebelum penambahan Tween 80 dan homogenisasi	8
Gambar 3. Hasil pertumbuhan <i>S. aureus</i> sesudah penambahan Tween 80 dan homogenisasi.....	8
Gambar 4. Suhu dan waktu kematian <i>S. aureus</i> dari suhu 60°C hingga 75°C sampel S5.....	9
Gambar 5. Suhu dan waktu kematian <i>S. aureus</i> dari suhu 60°C hingga 75°C sampel KN3.....	9
Gambar 6. Suhu dan waktu kematian <i>S. aureus</i> dari suhu 60°C hingga 75°C sampel SM 2.1.1	9
Gambar 7. Suhu dan waktu kematian <i>S. aureus</i> dari suhu 60°C hingga 75°C sampel SKMF 2.1.2.....	10
Gambar 8. Suhu dan waktu kematian <i>S. aureus</i> dari suhu 60°C hingga 75°C sampel SKMC 2.2.4	10
Gambar 9. Suhu dan waktu kematian <i>S. aureus</i> dari semua sampel.....	11

©UKDW

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Komposisi medium yang digunakan.....	17
LAMPIRAN 2. Tabel pengaturan suhu dan waktu.....	18
LAMPIRAN 3. Perhitungan total koloni	21
LAMPIRAN 4. Cara kerja pembuatan medium.....	27
LAMPIRAN 5. Cara kerja perlakuan suhu dan waktu	29
LAMPIRAN 6. Dokumentasi hasil perlakuan suhu dan waktu	30
LAMPIRAN 7. Naskah Seminar ICGRC2017 di Malang.....	34

©UKDW

Pengaruh Suhu dan Waktu Pasteurisasi terhadap Pertumbuhan Isolat *Staphylococcus aureus* pada Produk Susu

MARIA NIA YANIARTI

Program Studi Biologi Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana

Abstrak : *Staphylococcus aureus* adalah bakteri patogen pada manusia dan hewan karena memiliki kemampuan adhesi pada jaringan epitel. Banyak kasus keracunan makanan disebabkan adanya kontaminasi bakteri *S. aureus*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu terhadap pertumbuhan isolat *S. aureus* dari produk susu. Isolat diperoleh dari hasil isolasi penelitian sebelumnya yang berasal dari susu pasteurisasi, susu pedagang kaki lima dan susu kafe, susu bayi, dan produk susu kental manis. Perlakuan suhu dan waktu yang diteliti adalah suhu 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C dan 30, 35,40,45,50,55, dan 60 menit. Hasilnya menunjukkan bahwa suhu 60°C dan 65°C semua isolat *S. aureus* tidak tumbuh pada perlakuan 60 menit. Pada suhu 70°C membutuhkan waktu 50 menit untuk dapat membunuh bakteri *S. aureus* begitu pula dengan suhu 75°C membutuhkan waktu 40 menit, namun suhu 80°C hanya membutuhkan waktu 20 menit untuk membunuh bakteri *S. aureus*.

Kata kunci: *Staphylococcus aureus*, suhu dan waktu, perlakuan pasteurisasi

The Effect of Temperature and Pasteurization Time on *Staphylococcus aureus* Isolates from Dairy Products

MARIA NIA YANIARTI

Biology Department of Biotechnology Faculty, Duta Wacana Christian University

Abstract : *Staphylococcus aureus* is a potential pathogenic bacterial cause of disease in humans and animals due to the ability of adhesion to epithelial tissue. Many cases of food poisoning caused by *S. aureus* bacteria. Therefore, the purpose of this study was to determine the effect of temperature and time on the growth of *S. aureus* isolates from milk products. The sample are derived from previous researches namely pasteurized milk, street vendors and café milk, milk powder, and sweetened condensed milk products. Treatment of temperature and time studied were temperature 60°C, 65°C, 70°C, 75°C, 80°C and 30, 35,40,45,50,55, and 60 minutes. The result show that temperatures of 60°C and 65°C of all *S. aureus* isolates did not grow at 60 minutes. All isolates of *Staphylococcus aureus* died when the temperature were increased becomes 70°C in 50 minutes, 75°C in 45 minutes and 80°C occurs in 20 minutes.

Key words : *Staphylococcus aureus*, *Temperature and time* , *Pasteurization*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu merupakan salah satu sumber protein yang penting bagi manusia. Semua orang membutuhkan nutrisi yang ada di dalam susu. Namun susu juga merupakan nutrisi yang baik bagi pertumbuhan bakteri khususnya *S. aureus*. Selain pertumbuhan juga menghasilkan biomassa sel yang juga disintesisnya toksin. Maka dari itu susu menjadi faktor utama terjadinya intoksikasi karena mengkonsumsi susu dan produk yang sudah terkontaminasi oleh bakteri *S. aureus* (Giribaldi *et al.* 2016).

Staphylococcus aureus menghasilkan enterotoksin dan menjadi faktor yang penting dalam kasus keracunan makanan. Sifat enterotoksin yang tahan terhadap suhu tinggi menjadi permasalahan tersendiri bagi industri pangan. Jenis enterotoksin yang dihasilkan *Staphylococcus sp*, yaitu *Staphylococcal enterotoxin A* (SEA), B(SEB), C(SEC), D (SED), E(SEE), dan masih banyak lagi. Namun yang paling banyak menyebabkan keracunan makanan adalah jenis SEA. Adanya kemampuan menghasilkan suatu protein, enterotoksin A yang tahan terhadap suhu tinggi, telah menyebabkan adanya kasus keracunan akibat kontaminasi *S. aureus* pada makanan yang dikonsumsi. Selain itu juga telah banyak ditemukan kasus bahwa enterotoksin pada *S. aureus* resisten terhadap antibiotik. (Tsuratsuura *et al.* 2013)

Menurut Tsuratsuura *et al* (2013) faktor yang mempengaruhi produksi SEA adalah suhu. SEA dapat tumbuh pada suhu sekitar 45°C atau lebih. Kemampuan SEA inilah yang membuat makanan yang sudah dipanaskan pada suhu pasteurisasi masih bisa terkontaminasi oleh *S. aureus* yang memproduksi SEA.

Resiko bahaya dari infeksi *S. aureus* dan masih ditemukannya kasus keracunan makanan akibat *S. aureus* penghasil enterotoksin A tersebut mendorong penulis untuk melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan sampel yang telah di isolasi dan positif memiliki gen penghasil enterotoksin A untuk mengetahui pengaruh suhu dan waktu pasteurisasi yang dapat mematikan *S. aureus* sampai level aman untuk dikonsumsi.

1.2 Rumusan Masalah

Masih ditemukannya *S. aureus* penghasil enterotoksin A pada berbagai produk pangan yang menyebabkan keracunan makanan membuktikan bahwa suhu dan waktu pasteurisasi belum efektif membunuh bakteri *S. aureus* penghasil enterotoksin A sehingga perlu adanya penelitian terhadap perlakuan suhu dan waktu pasteurisasi yang tepat untuk membunuh cemaran *S. aureus*.

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui pengaruh suhu dan waktu terhadap pertumbuhan isolat *S. aureus* penghasil enterotoksin dari beberapa produk susu

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Memberikan informasi tentang perlakuan suhu dan waktu yang tepat untuk membunuh *S. aureus* sehingga makanan lebih aman untuk dikonsumsi.
- b. Untuk industri pangan agar lebih memperhatikan suhu dan waktu pasteurisasi.
- c. PKL bisa memanaskan susu terlebih dahulu dengan suhu dan waktu yang tepat agar susu aman dikonsumsi.
- d. Mengurangi kasus keracunan makanan khususnya makanan atau minuman yang sangat rawan terkontaminasi bakteri *S. aureus*.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Pada perlakuan suhu 60 hingga 75°C selama waktu 30 menit tidak dapat membunuh bakteri *S. aureus*. Suhu 60, 65°C dengan waktu 60 menit baru bisa mematikan bakteri tersebut sedangkan suhu 70°C grafik kematian terlihat pada waktu 50 menit dan suhu 75°C membutuhkan waktu 40 menit untuk dapat membunuh bakteri *S. aureus*. Namun ketika suhu dinaikkan menjadi 80°C selama 20 menit terbukti dapat membunuh bakteri *S. aureus*. Maka dari itu pemanasan produk susu dapat dilakukan dengan suhu 80°C selama 20 menit untuk membunuh bakteri *S. aureus* dan mengurangi tingkat keracunan makanan yang terjadi.

5.2 Saran

Melihat hasil yang diperoleh mengenai suhu dan waktu yang tepat untuk pemanasan produk susu maka diharapkan bagi masyarakat untuk melakukan pemanasan terhadap susu terlebih dahulu agar aman untuk di konsumsi, selain itu diharapkan mampu memberikan masukan bagi industri pangan khususnya susu dalam mengatur suhu dan waktu pasteurisasi. Namun perlu adanya penelitian lebih lanjut terhadap kualitas susu yang dipanaskan dengan suhu tinggi dan waktu yang lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H, Kozaki S. 2003. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol Infect* 130(1), pp. 33–40. doi: 10.1017/S0950268802007951.
- Bardiau M, Caplin J, Dettelleux J, Graber H, Moroni P, Taminiau B, Mainil JG. 2016. Existence of two groups of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis based on biofilm formation, intracellular survival, capsular profile and agr-typing. *Veterinary Microbiology*. Elsevier BV: 185, pp. 1–6. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.01.003.
- Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, Mietzner TA. 2013. *Mikrobiologi Kedokteran Ed.23, Translation of Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23th*. McGraw-Hill, US
- Capita R, Calleja CA, Moreno B, Fernandez MCG. 2001. Assessment of Baird-Parker Agar as Screening Test for Determination of *Staphylococcus aureus* in Poultry Meat. *The Journal of Microbiology* 39(4), pp. 321–325.
- Carvalho SA, Carmo L, Abreau E, Dias RS, Apolonio ACM, Santos SG, Farias LM, Carvalho MAR. 2013. TSST-1, enterotoxin and bacteriocin-like substance production by *Staphylococcus aureus* isolated from foods. *Arq Bras Med Vet Zootec* v.65, n.5, pp.1537–1544.
- Cebrián G, Condon S & Manas P. 2016. Influence of growth and treatment temperature on *Staphylococcus aureus* resistance to pulsed electric fields: Relationship with membrane fluidity. Elsevier Ltd. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ifset.2016.08.011>.
- Chen M, Yu Q & Sun H. 2013. Novel strategies for the prevention and treatment of biofilm related infections. *Int J Mol Sci* 14(9), pp. 18488–18501. doi: 10.3390/ijms140918488.
- Dewi NA & Budiarto TY. 2014. Detection of *Staphylococcus* sp on Pasteurization Milk Products in Sleman District, Yogyakarta [Thesis]. Duta Wacana Christian University, Yogyakarta [Indonesia]
- Fletcher S, Boonwaat L, Moore T, Chavada R, Conaty S. 2015. Investigating an outbreak of staphylococcal food poisoning among travellers across two Australian states. *WPSAR* 6(2), pp.17–21. Available at: <http://ojs.wpro.who.int/ojs/index.php/wpsar/article/view/304/474>.
- Garrett TR, Bhakoo M & Zhang Z. 2008. Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science* 18(9), pp.1049–1056.
- Gemmell CG. 1995. Staphylococcal scalded skin syndrome. *J Med Microbiol* 116(6), p. 49.
- Hu S, Liu S, Hu W, Zheng T, Xu J. 2012. Molecular biological characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from food, *Eur Food Res and Technol* 236, pp. 285–291. doi: 10.1007/s00217-012-1887-4.
- Irwanto MI, Budiarto TY. 2015. Biochemical and molecular characterization of typical *Staphylococcus aureus* isolates from pasteurized milk in Yogyakarta. *Proceeding 1st International Seminar on "Natural Resources Biotechnology: from Local to Global*. Faculty of Biotechnology. Universitas Atmajaya Yogyakarta, p 290-295
- Karmakar A, Dua P & Ghosh C. 2016. Biochemical and Molecular Analysis of *Staphylococcus aureus* Clinical Isolates from Hospitalized Patients. *Can J Infect Dis Med Microbiol*: 9041636. doi: 10.1155/2016/9041636.
- Kirk M, Ford L, Glass K, Hall G. 2014. Foodborne illness, Australia, circa 2000 and circa 2010. *Emerging Infectious Diseases*, 20:1857–1864. doi:10.3201/eid2011.131315
pmid:25340705
- Montanari C, Serrazanetti DI, Felis G, Torriani S, Tabanelli G, Lanciotti R, Gardini F. 2015. New insights in thermal resistance of staphylococcal strains belonging to the species *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus aureus*, *Food Control*. Elsevier Ltd, 50, pp. 605–612. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.09.039.

- Morandi S, Brasca M, Lodi R, Cremonesi P, Castiglioni B. 2007. Detection of classical enterotoxins and identification of enterotoxin genes in from milk and dairy products. *Veterinary Microbiology*, Elsevier, 2007, 124 (1-2), pp.66. .
- Ouazzou AA, Manas P, Condon S, Pagan R, Gonzalo GD. (2012). Role of general stress response alternative sigma factors σ^S (RpoS) and σ^B bacterial heat resistance as a function of treatment medium pH. *International Journal of Food Microbiology* 153: 358-364.
- Palilu PT, Budiarto TY. 2017. Isolation and identification of *Staphylococcus* sp. in powdered infantmilk. AIP Cocference Proceeding 1844,010001(2017); <http://doi.org/10.1063/1.4983410>
- Rall VLM, Vieira FP, Vieitis RL, Fernandes A, Candeias JMG, Cardoso KFG, Araujo JP. 2008. PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw and pasteurized milk, *Veterinary Microbiology*, 132(3-4), pp. 408-413. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.05.011.
- Schelin J, Carlquist NW, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC & Radstrom P. 2011. The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, 2(6), pp.580-92.
- Schlievert PM, Jablonski LM, Roggiani M, Sadler I, Callantine S, Mitchell DT, Ohlendorf DH & Bohach GA. 2000. Pyrogenic Toxin Superantigen Site Specificity in Toxic Shock Syndrome and Food Poisoning in Animals Pyrogenic Toxin Superantigen Site Specificity in Toxic Shock Syndrome and Food Poisoning in Animals, 68(6), pp. 3630-3634. doi: 10.1128/IAI.68.6.3630-3634.2000.
- Scherrer D, Corti S, Muehlherr JE, Zweifel C, Stephan R. 2004. Phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from raw bulk-tank milk samples of goats and sheep, *Veterinary Microbiology*, 101(2), pp. 101-107. doi: 10.1016/j.vetmic.2004.03.016.
- Schubert J, Podkowik M, Bystron J, Bania J. 2016. Production of staphylococcal enterotoxins in microbial broth and milk by *Staphylococcus aureus* strains harboring seh gene. *Int J Food Microbiol*, 235, pp.36-45.
- Sutejo SVH, Budiarto TY. 2017. Molecular Detection of *Staphylococcus aureus* Resistant to Temperature in milk and Its products [Thesis]. Duta Wacana Christian University, Yogyakarta [Indonesia]
- Tarver T. 2009. Biofilms: A threat to food safety, *Food Technol*, 63(2), pp. 46-52.
- Thaker, HC, Brahmabhatt MN & Nayak JB. 2013. Isolation and identification of staphylococcus aureus from milk and milk products and their drug resistance patterns in anand, gujarat, *Vet World*, 6(1), pp. 10-13. doi: 10.5455/vetworld.2013.10-13.
- Tsutsuura S, Shimamura Y & Murata M. 2013. Temperature dependence of the production of staphylococcal enterotoxin A by *Staphylococcus aureus*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 77(1), pp.30-7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23291745>
- Tranter HS. 1996. Foodborne illness: foodborne staphylococcal illness. *Lancet* 336, 1044-1046.
- Wang LH, Wang MS, Zeng XA & Liu ZW. 2016. Temperature-mediated variations in cellular membrane fatty acid composition of *Staphylococcus aureus* in resistance to pulsed electric fields. *Biochim, Biophys Acta*, 1858(8), pp.1791-1800. doi: 10.1016/j.bbamem.2016.05.003