

SKRIPSI

IDENTIFIKASI ENTEROTOKSIN *Staphylococcus aureus* DENGAN TEKNIK KROMATOGRAFI GAS SPEKTROMETER MASSA DARI SAMPEL MAKANAN

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan
Untuk memperoleh gelar Sarjana Sain Terapan



Oleh :

**RHAMA AMSEDIWITA MURTI
NIM : 1713353125**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA IV ANALIS KESEHATAN/TLM
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN PERINTIS PADANG
PADANG
2018**

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI ENTEROTOKSIN *Staphylococcus aureus*
DENGAN TEKNIK KROMATOGRAFI GAS
SPEKTROMETER MASSA DARI
SAMPEL MAKANAN**

Skripsi ini diajukan sebagai salah satu persyaratan
Untuk memperoleh gelar Sarjana Sain Terapan

Oleh :

**RHAMA AMSEDIWITA MURTI
NIM : 1713353125**

**PROGRAM STUDI DIPLOMA IV ANALIS KESEHATAN/TLM
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN PERINTIS PADANG
PADANG
2018**

ABSTRAK

IDENTIFIKASI ENTEROTOKSIN *Staphylococcus aureus* DENGAN TEKNIK KROMATOGRAFI GAS SPEKTROMETER MASSA DARI SAMPEL MAKANAN

Oleh :

Rhama Amsediwita Murti (dh1wimurtye@gmail.com)

Pada manusia, *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri penyebab keracunan makanan (food poisoning) yang paling sering terjadi. Di Amerika dilaporkan 60% kasus keracunan makanan disebabkan oleh bakteri. Penelitian dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Padang, bertujuan untuk mendeteksi enterotoksin *Staphylococcus aureus* pada makanan yang dibiarkan pada suhu ruang yang sudah terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus*. Metode yang digunakan adalah metode Gas Kromatografi. Hasil penelitian yang didapatkan yaitu tidak adanya enterotoksin pada makanan yang sudah terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditandai dengan total angka kuman bakteri *Staphylococcus aureus* yang hanya mencapai 10^3 . Sedangkan jumlah bakteri *Staphylococcus aureus* menghasilkan toksin jika populasinya melebihi 10^5 cfu/g. Namun di duga ada beberapa senyawa yang menjadi toksin dalam makanan.

Kata kunci	: <i>food poisoning</i> , Enterotoksin, <i>Staphylococcus aureus</i> .
------------	--

ABSTRACT

IDENTIFICATION OF ENTEROTOXIN *Staphylococcus aureus* WITH GAS CHROMATOGRAPHY TECHNIQUES MASS SPECTROMETERS FROM FOOD SAMPLE

Rhama Amsediwita Murti (dh1wimurtye@gmail.com)

In humans, *Staphylococcus aureus* is most common bacterial cause of food poisoning. In United States reported 60% of cases of food poisoning caused by bacteria. The study was conducted at Padang Health Laboratory Hall, aiming to detect food stored at room temperature for ≥ 6 hours that has been contaminated with *Staphylococcus aureus* bacteria contained *Staphylococcus aureus* enterotoxin. The method used was Gas Chromatography method. The result of this research is absence of enterotoxin in food contaminated with *Staphylococcus aureus* bacteria characterized by the total number of bacteria *Staphylococcus aureus* which only reached 103. While the number of *Staphylococcus aureus* bacteria produce toxin if the population exceeds 105 cfu / g. However, it is suspected that some compounds are toxins in the food.

Keyword	: <i>food poisoning</i> , Enterotoksin, <i>Staphylococcus aureus</i> .
---------	--

LEMBAR PERSETUJUAN

Skripsi ini :

Nama : Rhama Amsediwita Murti
Tempat, Tanggal Lahir : Bukittinggi, 2 Februari 1997
Nim : 1713353125
Judul Proposal penelitian : Identifikasi Enterotoksin *Staphylococcus aureus*
Dengan Teknik Kromatografi Gas Spektrometer
Massa dari Sampel Makanan

Kami disetujui untuk diujikan di depan dewan penguji skripsi pada tanggal
: 20 Juli 2018

Padang, April 2018

Pembimbing I

Pembimbing II

Adi Hartono SKM. M.Biomed
NIND : 19640730198901

Enlita, S.SiT
NIND : 10007066801

SKRIPSI

IDENTIFIKASI ENTEROTOKSIN *Staphylococcus aureus* DENGAN TEKNIK KROMATOGRAFI GAS SPEKTROMETER MASSA DARI SAMPEL MAKANAN

Disusun oleh :
RHAMA AMSEDIWITA MURTI
NIM : 1713353125

Telah diujikan di depan Penguji SKRIPSI
Program Studi Diploma IV Analis Kesehatan/TLM
STIKes Perintis Padang
Pada tanggal 20 Juli 2018, dan dinyatakan

LULUS

Pembimbing I

Pembimbing II

Adi Hartono, SKM. M.Biomed
NIND : 1964030198901

Enlita, S.SiT
NIND : 10007066801

Penguji,

Dr. Almurdi, DMM M.Kes
NIDN : 0023086209

Skripsi ini telah memenuhi salah satu persyaratan
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Terapan

Mengetahui :
Ketua Program Studi DIV Teknologi Laboratorium Medik
STIKes Perintis Padang

Dr. H. Lillah, Sp.PK(K)
NIDN : 0026104301

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rhama Amsediwita Murti

Nim : 1713353125

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang di tulis dengan judul **“Identifikasi Enterotoksin *Staphylococcus aureus* Dengan Teknik Kromatografi Gas Spektrometer Massa dari Sampel Makanan”** adalah kerja/karya sendiri dan bukan hasil karya orang lain, kecuali kutipan yang sumbernya dicantumkan. Jika kemudian hari pernyataan ini tidak benar maka status kelulusan menjadi batal dengan sendirinya.

Padang, 20 Juli 2018

Yang menyatakan,

Rhama Amsediwita Murti

BIODATA



Nama : Rhama Amsediwita Murti

Tempat, Tanggal Lahir : Bukittinggi, 2 Februari 1997

Agama : Islam

Jenis Kelamin : Perempuan

Alamat : Jorong Tanjuang Batuang, Nagari Duo Koto,
Kecamatan Tanjung Raya, Kabupaten Agam

Riwayat Pendidikan :

1. SD Negeri 10 Kotonggi
2. SMP Negeri 1 Tanjung Raya
3. MA Negeri Koto Kecil
4. DIII Teknologi Laboratorium Medik STIKes
Perintis Padang

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi ini dengan judul “Identifikasi Enterotoksin *Staphylococcus aureus* dengan Teknik romatografi Gas Spektrometer Massa dari Sampel Makanan”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Studi Diploma IV Analisis Kesehatan/TLM.

Dalam menyelesaikan Skripsi ini penulis banyak mendapatkan bantuan baik materil maupun moril dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Yohanes, Ketua Yayasan STIKes Perintis Padang.
2. Bapak Yendrizaral Jafri, S.Kp., M.Biomed, selaku Ketua STIKes Perintis Padang.
3. Bapak dr. H. Lillah, Sp.PK(K), selaku Ketua Program Studi D-IV Analisis Kesehatan/TLM STIKes Perintis Padang.
4. Bapak Adi Hartono, SKM, M.Biomed selaku pembimbing I
5. Ibu Enlita, S.SiT selaku pembimbing II,
6. Bapak Drs. Almurdi, DMM, M.Kes selaku dosen penguji,
7. Kepada Kedua orang tua dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang memberikan motivasi, serta dukungan dan doa yang selalu mengiringi penulis dalam penyelesaian Skripsi ini,

Penulis menyadari bahwa Skripsi ini masih belum sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran serta masukan yang dapat membangun

kesempurnaan Skripsi ini. Harapan penulis, semoga Skripsi ini bermanfaat bagi semua pihak nantinya.

Akhir kata penulis ucapkan terima kasih dan semoga Allah Ta'ala melimpahkan berkah kepada kita semua.

Aamiin ya rabbal a'lamin.

Padang, 20 Juli 2018

Rhama Amsediwita Murti

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMBUNG.....	i
ABSTRAK	ii
ABSTRACT	iii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
HALAMAN PERNYATAAN.....	vi
BIODATA	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah Penelitian	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	4
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Staphylococcus aureus</i>	4
2.1.2 Patogenesitas <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.1.3 Ciri Khas <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.1.4 Biakan <i>Staphylococcus aureus</i>	8
2.1.5 Karakteristik Pertumbuhan.....	10
2.1.6 Epidemiologi	10
2.2 Enterotoksin	11
2.3 Enterotoksin <i>Staphylococcus aureus</i>	12
2.4 Makanan.....	13
2.4.1 Pengertian Makanan.....	13
2.4.2 Pengertian Higiene dan Sanitasi Makanan.....	13
2.4.3 Penyimpanan Makanan Masak	14
2.5 Kromatografi Gas-Spektrometer Massa.....	18
2.5.1 Definisi Kromatografi Gas-Spektrometer Massa	18
2.5.2 Prinsip Kerja.....	19
2.5.3 Instrumen Alat.....	20
2.5.4 Limitasi/Batasan.....	22
2.5.5 Sampel.....	22
2.5.6 Keunggulan Metode Kromatografi Gas-Spektrometer Massa.....	23
2.5.7 Kelemahan Metode Kromatografi Gas-Spektrometer Massa	24

BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Jenis Penelitian.....	25
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	25
3.3 Populasi dan Sampel	25
3.3.1 Populasi	25
3.3.2 Sampel.....	25
3.4 Alat dan Bahan	25
3.4.1 Alat.....	26
3.4.2 Bahan.....	26
3.5 Prosedur Kerja.....	26
3.5.1 Sterilisasi Alat	26
3.5.2 Pengambilan Sampel.....	26
3.5.3 Isolasi dan Identifikasi Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	27
3.5.4 Pewarnaan Gram	27
3.5.5 Uji Enterotoksin dengan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa.....	27
3.6 Analisa Data	27
3.7 Alur Penelitian	28
BAB IV HASIL	
4.1 Hasil Identifikasi Karakteristik <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.1.1 Pewarnaan Gram	29
4.1.2 Tes Koagulase	29
4.2 Karakteristik Sampel Makanan	30
4.3 Hasil Identifikasi Enterotoksin <i>Staphylococcus aureus</i>	31
BAB V PEMBAHASAN	
5.1 Pembahasan.....	36
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	38
6.2 Saran.....	38
DAFTAR PUSTAKA	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Karakteristik Sampel.....	30
4.2 Sampel Sebagai Referens.....	30
4.3 Hasil Identifikasi Toksin Menggunakan GC-MS	31
4.4 Sampel Sebagai Referens.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar.....	Halaman
4.1 Pewarnaan Gram Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	29
4.2 Tes Koagulase Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

- 1 Penyiapan Sampel Makanan
- 2 Pengujian Endotoksi Menggunakan GC-MS
- 3 Dokumentasi Penelitian
- 4 Surat Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keracunan makanan, istilah yang hampir selalu muncul dalam media massa akhir-akhir ini. Di Amerika dilaporkan 60% kasus keracunan makanan disebabkan oleh bakteri. Penyakit oleh bakteri ini terjadi dengan dua cara yaitu menginfeksi manusia melalui makanan (*food infection*) dan meracuni melalui makanan (*food poisoning*). Bakteri penyebab food poisoning diketahui yaitu *Staphylococcus* dan *Clostridium botulinum* yang menghasilkan racun (Maruyama & O'Leary, 2000).

Kompas tanggal 23 Maret 2017 melaporkan sebanyak 68 warga Kampung Balek, Sumatera Utara mengalami keracunan makanan setelah mengonsumsi nasi kotak. Kejadian muncul sesaat setelah mereka makan, merasakan mual-mual, kepala pusing, muntah, diare, dan demam tinggi (Kompas 23 Maret 2017).

Makanan merupakan kebutuhan pokok setiap manusia yang berfungsi untuk membentuk atau mengganti jaringan tubuh serta memberikan tenaga untuk tubuh manusia. Sebagai kebutuhan pokok manusia, makanan seharusnya di konsumsi dalam kondisi yang bersih dari bahan-bahan tercemar dan sebaiknya langsung di konsumsi dalam keadaan segar (Hataka *et al*, 2000).

Makanan adalah tempat yang nyaman bagi berbagai mikroorganisme. Tentunya dapat dibayangkan betapa berbahaya makanan yang kita konsumsi ternyata bisa beracun atau rusak karena mikroorganisme. Mikroorganisme sangat mungkin menyebabkan keracunan karena mikroorganisme dapat mengeluarkan

racun (toksin) yang berbahaya bagi kesehatan. Racun bisa berupa eksotoksin maupun enterotoksin. Eksotoksin adalah racun yang di produksi oleh mikroorganisme hidup. Enterotoksin adalah racun yang stabil terhadap panas, biasanya menyerang lapisan lendir (selaput mukosa) usus (Gorman, 2002).

Staphylococcus aureus merupakan bakteri penyebab keracunan makanan (*food poisoning*) yang paling sering terjadi. *Staphylococcus aureus* dapat menimbulkan gastroenteritis akibat mengkonsumsi makanan yang mengandung satu atau lebih enterotoksin yang dihasilkannya. Toksin yang dihasilkan *Staphylococcus aureus* bersifat tahan dalam suhu tinggi, meskipun bakteri mati dengan pemanasan namun toksin yang dihasilkan tidak akan rusak dan masih dapat bertahan meskipun dengan pendinginan atau pembekuan (Summer dan Stehulak, 2000).

Staphylococcus aureus yang menghasilkan enterotoksin berperan sebagai mikroorganisme penyebab intoksikasi makanan (Atanassova, 2001). Keberadaan *Staphylococcus aureus* enterotoksigenik dalam pangan merupakan masalah (ancaman) dalam kesehatan masyarakat karena terkait dengan kemampuan bakteri tersebut untuk menimbulkan gejala klinis pada konsumen. *Staphylococcus aureus* menghasilkan toksin jika populasinya telah melebihi 10^5 cfu/g (Gorman, 2002).

Keberadaan Toksin dalam makanan dapat dideteksi secara kualitatif dan kuantitatif. Metode deteksi yang dapat digunakan antara lain *high performance liquid chromatography* (HPLC), *gas chromatography* (GC), flourimetri dan lainnya (Zheng *et al.* 2006).

Melihat banyaknya penyakit yang ditimbulkan akibat pencemaran mikroorganisme patogen, khususnya *Staphylococcus aureus*, perlu dilakukan penelitian untuk mendeteksi kandungan enterotoksin pada makanan yang positif *Staphylococcus aureus* dengan teknik Gas Kromatografi (GC).

1.2 Perumusan Masalah Penelitian

Apakah metode Gas Kromatografi-Spektrometer Massa dapat digunakan untuk identifikasi enterotoksin bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat makanan?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengidentifikasi enterotoksin bakteri *Staphylococcus aureus* dari sampel makanan menggunakan Gas Kromatografi-Spektrometer Massa.

1.4 Manfaat Penelitian

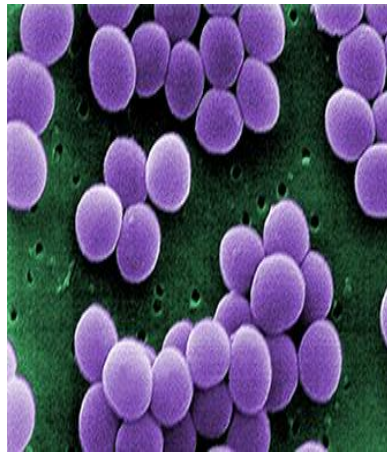
Manfaat penelitian ini adalah mengetahui cara identifikasi Enterotoksin bakteri *Staphylococcus aureus* metode Gas Kromatografi-Spektrometer Massa (GC-MS) dari isolat makanan, serta menambah informasi tentang hasil penelitian *Staphylococcus aureus* yang sering menjadi penyebab keracunan makanan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Staphylococcus aureus*

2.3.1 Klasifikasi dan Morfologi *Staphylococcus aureus*



Kingdom	: Monera
Divisio	: Firmicutes
Class	: Bacilli
Order	: Bacillales
Family	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus
Species	: <i>S. aureus</i>

Bakteri *Staphylococcus* berbentuk bulat menyerupai bentuk buah anggur yang tersusun rapi dan tidak teratur satu sama lain. Sifat dari bakteri ini umumnya sama dengan bakteri coccus yang lain yaitu :

1. Berbentuk bulat dengan diameter kira-kira 0,5 – 1,5 μm .
2. Warna koloni putih susu atau agak krem
3. Tersusun dalam kelompok secara tidak beraturan.
4. Bersifat fakultatif anaerobic
5. Pada umumnya tidak memiliki kapsul
6. Bakteri ini juga termasuk juga bakteri nonsporogenous (tidak berspora)
7. Sel-selnya bersifat positif-Gram, dan tidak aktif melakukan pergerakan (non motile)
8. Bersifat pathogen dan menyebabkan lesi local yang oportunistik

9. Menghasilkan katalase
10. Tahan terhadap pengeringan, panas dan Sodium Klorida (NaCl) 9 %
11. Pertumbuhannya dapat dihambat dengan cepat oleh bahan kimia tertentu seperti Hexachlorophene 3%.
12. Sebagian besar adalah saprofit yang hidup di alam bebas, namun habitat alamiahnya adalah pada permukaan epitel golongan primate/mamalia.

Bakteri yang memiliki genus *Staphylococcus* ini mempunyai ciri-ciri morfologi sebagai berikut :

1. Warna koloni putih susu atau agak krem,
2. Bentuk koloni bulat, tepian timbul,
3. Sel bentuk bola, diameter 0,5-1,5 um,
4. Terjadi satu demi satu, berpasangan, dan dalam kelompok tidak teratur,

Menurut Holt *et al*, (1994), bakteri *Staphylococcus sp.* Gram positif, tidak berspora, tidak motil, fakultatif anaerob, kemoorganotrofik, metil red positif, tumbuh optimum pada suhu 30-37°C dan tumbuh baik pada NaCl 1-7%, dengan dua pernapasan dan metabolisme fermentatif. Koloni biasanya buram, bisa putih atau krem dan kadang-kadang kuning keorangeoran. Bakteri ini katalase positif dan oksidase negatif, sering mengubah nitrat menjadi nitrit, rentan lisis oleh lisostafin tapi tidak oleh lisozim.

2.3.2 Patogenesitas *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan salah satu kuman patogen yang berbahaya. Infeksi oleh *Staphylococcus aureus* dapat menyebar melalui kontak dengan nanah dari luka yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*, kontak dengan

kulit orang yang terinfeksi *Staphylococcus aureus*, kontak dengan karier *Staphylococcus aureus*, serta kontak dengan barang-barang, seperti handuk, pakaian, dan lainnya (Summer, 2000).

Staphylococcus aureus dapat menimbulkan penyakit melalui kemampuannya tersebar luas dalam jaringan dan melalui pembentukan berbagai zat ekstraseluler. Berbagai zat yang berperan sebagai factor virulensi dapat berupa protein, termasuk enzim dan toksin, contohnya :

1. Katalase

Katalase adalah enzim yang berperan pada daya tahan bakteri terhadap proses fagositosis. Tes adanya aktivitas katalase menjadi pembeda genus *staphylococcus* dari *streptococcus*.

2. Koagulase

Enzim ini dapat menggumpalkan plasma oksalat atau plasma sitrat, karena adanya factor koagulase reaktif dalam serum yang bereaksi dengan enzim tersebut. Esterase yang dihasilkan dapat meningkatkan aktivitas penggumpalan, sehingga terbentuk deposit fibrin pada permukaan sel bakteri yang menghambat fagositosis.

3. Hemolisin

Hemolisin merupakan toksin yang dapat membentuk zona hemolysis disekitar koloni bakteri. Hemolysis *Staphylococcus aureus* terdiri dari alfa hemolisin, beta hemolisin, dan delta hemolisin. Alfa hemolisin adalah toksin yang bertanggung jawab terhadap pembentukan zona hemolisis disekitar koloni *Staphylococcus aureus* pada medium agar darah. Toksin ini

dapat menyebabkan nekrosis pada kulit hewan dan manusia. Beta hemolisin adalah toksin yang terutama dihasilkan *Staphylococcus* yang diisolasi dari hewan. Yang menyebabkan lisis pada sel darah merah domba dan sapi. Sedangkan delta hemolisin adalah toksin yang dapat melisiskan sel darah merah manusia dan kelinci, tetapi efek lisisnya kurang terhadap sel darah merah domba.

4. Leukosidin

Toksin ini dapat mematikan sel darah putih pada beberapa hewan. Tetapi perannya dalam pathogenesis pada manusia tidak jelas, karena *Staphylococcus* patogen tidak dapat mematikan sel-sel darah putih manusia dan dapat difagositosis.

5. Toksin Eksfoliatif

Toksin ini mempunyai aktivitas proteolitik dan dapat melarutkan matriks mukopolisakarida epidermis, sehingga menyebabkan pemisahan intraepithelial pada ikatan sel di stratum granulosum. Toksin eksfoliatif merupakan penyebab *Staphylococcus Scalded Skin Syndrome* (SSSS), yang ditandai dengan melepuhnya kulit.

6. Toksin Sindrom Syok Toksik (TSST)

Sebagian besar galur *Saphylococcus aureus* yang diisolasi dari penderita sindrom syok toksis menghasilkan eksotoksin pirogenik. Pada manusia, toksin ini menyebabkan demam, syok, ruam kulit, dan gangguan multisystem organ tubuh.

7. Enterotoksin

Enterotoksin adalah enzim yang tahan panas dan tahan terhadap suasana basa di dalam usus. Enzim ini merupakan penyebab utama dalam keracunan makanan yang mengandung karbohidrat dan protein.

2.3.3 Ciri khas *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah sel yang berbentuk bola dengan diameter 1µm yang tersusun dalam bentuk kluster yang tidak teratur, kokus tunggal, berpasangan, tetrad dan berbentuk rantai juga tampak dalam biakan cair. *Staphylococcus* bersifat non motil dan tidak membentuk spora. Di bawah pengaruh obat seperti penisilin, *staphylococcus* mengalami lisis (Loir *et al.*, 2003).

Spesies mikrokokus sering kali mirip *Staphylococcus*. Mereka hidup bebas di lingkungan dan membentuk kumpulan yang teratur terdiri atas 4 atau 8 kokus. Koloninya berwarna kuning, merah atau orange.

2.3.4 Biakan *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus tumbuh dengan baik pada berbagai media bakteriologi dibawah suasana aerobik atau mikroaerofilik. Tumbuh dengan cepat pada temperatur 37°C namun pembentukan pigmen yang terbaik adalah pada temperature kamar (20-35°C). Media yang sering digunakan adalah sebagai berikut (Soemarno, 1962);



1) Nutrient Agar (NA)

Biasanya koloni *Staphylococcus* yang tumbuh pada media ini berwarna putih sampai kuning, smooth, tumbuh subur dan memiliki elevasi yang datar atau keping.

2) Blood Agar Plate (BAP)

Koloni *Staphylococcus aureus* yang tumbuh pada media agar darah berukuran sedang-besar, smooth, memiliki elevasi datar atau keping, haemolytic atau anhaemolytic. Pada umumnya koloni *Staphylococcus* berwarna putih sampai kuning, tetapi ada beberapa spesies yang memberikan warna tersendiri, koloni *Staphylococcus aureus* berwarna kuning emas, koloni *Staphylococcus citreus* berwarna kuning jeruk, sedangkan koloni *Staphylococcus albus* berwarna putih.

3) Manitol Salt Agar (MSA)

Koloni yang tumbuh berukuran kecil-sedang, smooth, koloni berwarna kuning dengan zone yang berwarna kuning juga.

4) Uji biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk melihat karakteristik bakteri melalui reaksi biokimia, yang biasa dilakukan diantaranya:

5) TSIA (Tripel Sugar Iron Agar)

Digunakan untuk identifikasi bakteri gram negatif batang, untuk melihat kemampuan meragi glukosa dan sukrosa atau laktosa.

2.3.5 Karakteristik Pertumbuhan

Bakteri Staphylococcus aureus menghasilkan katalase, itu yang membedakannya dengan *Bakteri Streptococcus*. *Staphylococcus* memfermentasi karbohidrat menghasilkan asam laktat dan tidak menghasilkan gas. Aktivitas proteolitik bervariasi dari 1 jalur ke jalur yang lain. *Staphylococcus* yang patogenik menghasilkan beberapa produk ekstra seluler.

2.3.6 Epidemiologi

Staphylococcus aureus dapat menyebabkan penyakit dengan produksi toksin preformed maupun oleh menginfeksi baik jaringan lokal dan sirkulasi sistemik. Penularan penyakit dapat terjadi pada bagian-bagian :

Gastrointestinal: *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi akut keracunan makanan melalui *preformed enterotoxins*. Bahan makanan mungkin terinfeksi oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang terdapat pada produk daging, unggas, produk telur, salad seperti telur, tuna, ayam, kentang, dan makaroni, krim pengisi roti, kue pai, kue sus coklat, dan produk susu.

Infeksi kulit dan rambut: *Staphylococcus aureus* umumnya hidup berkoloni pada permukaan kulit nasofaring, dan perineum. Infeksi di permukaan ini dapat terjadi terutama bila penghalang kulit mengalami gangguan fungsi atau kerusakan.

Infeksi sistemik: *Staphylococcus aureus* pada umumnya menyebabkan infeksi endokarditis pada penderita osteomyelitis, penderita infeksi sinus, dan penderita epiglottitis (biasanya anak-anak)

Infeksi nosokomial: resisten methicillin *Staphylococcus staphylococcal* (MRSA) adalah strain bakteri yang umumnya terlibat dalam infeksi nosokomial . Faktor risiko untuk kolonisasi MRSA atau infeksi yang terjadi di rumah sakit antara lain sebelum paparan antibiotik, saat masuk ke unit perawatan intensif, insisi bedah, maupun paparan pasien yang terinfeksi.

2.2 Enterotoksin

Enterotoksin termasuk dalam kelompok eksotoksin yang kebanyakan menyebabkan kasus keracunan pada makanan. Enterotoksin merupakan protein oligomerik yang terdiri dari satu rantai polipeptida A dan lima rantai polipeptida B. Rantai polipeptida A bertugas dalam menghasilkan suatu perlukaan pada sel sehingga dapat mengeluarkan efek toksin ke dalam sel, sedangkan rantai polipeptida B bertugas untuk berikatan dengan permukaan reseptor dari sel inang. Toksin ini diproduksi di dalam pori-pori dan dilepaskan pada fase pertumbuhannya di dalam usus kecil, ukurannya lebih besar dari endotoksin, dengan berat molekul sekitar 50 – 1000 kDa dan berfungsi seperti enzim dengan potensi toksik yang tinggi (konsentrasi 1 µg dapat menyebabkan keracunan).

Toksin ini juga bersifat sitotoksik (tidak menyebabkan kerusakan pada membran sel tetapi menyebabkan peningkatan pembentukan messenger intraseluler yang dapat meningkatkan sekresi dan menyebabkan diare), tahan panas (*heatstable*) sehingga pemanasan terhadap makanan tidak akan merusak toksin, dan dapat membunuh sel dengan mengubah permeabilitas dari epitel sel dinding usus (Hataka *et al.*, 2000).

Di samping itu, enterotoksin bersifat tahan asam dan tahan terhadap pengaruh enzim proteolitik, seperti tripsin dan pepsin (Paryati, 2006) sehingga proses pemusnahannya menjadi sulit. Enterotoksin juga tidak merangsang terjadinya suatu tanggapan perbarahan meskipun kuman yang menghasilkannya bersifat flogistik atau menyebabkan perbarahan dan dihasilkan oleh berbagai bakteri termasuk bakteri penyebab keracunan makanan seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Clostridium perfringens*, dan *Yersinia enterocolitis* (Gyles & Thoen 1993).

2.3 Enterotoksin Bakteri *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus dapat tumbuh pada konsentrasi garam yang tinggi sehingga disebut osmotoleran (Anonim, 2011). Hanya sekitar 30% dari galur *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan enterotoksin, yang dilepaskan ke makanan sehingga beresiko menyebabkan keracunan makanan (*food intoxication*) pada konsumen (Forsythe dan Hayes, 1998). Keenam enterotoksin tersebut adalah A, B, C1, C2, D dan E (SEA, SEB, dan lain-lain), yang mana tipe A dan d banyak ditemukan di makanan.

Enterotoksin *Staphylococcus aureus* berbentuk protein rantai tunggal yang bersifat antigenic dengan berat molekul 26-29 kDa (Normanno, 2005). Enterotoksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus* memiliki sifat resisten terhadap panas atau *heat resistant* (Meggitt, 2003).

Sejumlah besar *Staphylococcus aureus* pada makanan dibutuhkan untuk menyebabkan kejadian keracunan makanan agar menghasilkan jumlah enterotoksin yang cukup, namun jumlahnya tidak pasti. Jumlah *Staphylococcus aureus* penghasil enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan diduga jika melebihi $\geq 10^6$ sel/g yang diperkirakan menghasilkan enterotoksin sebanyak 1 μ g. Jumlah 1 μ g cukup untuk menyebabkan gejala klinis pada orang dewasa, sedangkan pada anak-anak cukup dibutuhkan 0,2 μ g (Forsythe dan Hayes, 1998).

2.4 Makanan

2.4.1 Pengertian Makanan

Makanan adalah kebutuhan pokok manusia yang diperlukan setiap saat dan memerlukan pengolahan yang baik dan benar agar bermanfaat bagi tubuh, karena makanan sangat diperlukan untuk tubuh. Menurut Departemen Kesehatan RI (2000:3)

Makanan adalah semua bahan dalam bentuk olahan yang dimakan manusia kecuali air dan obat-obatan. Makanan menurut Permenkes No.329 tahun 1976 adalah barang yang digunakan sebagai makanan atau minuman manusia, termasuk permen karet dan sejenisnya tetapi bukan obat. Makanan penting untuk pertumbuhan karena sebagai bahan yang diperlukan untuk membangun dan

mengganti jaringan tubuh, untuk memelihara pertahanan tubuh terhadap penyakit dan memberikan energi untuk bekerja.

Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah, yang diperuntukan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan dan ataupun pembuatan makanan dan minuman (UU No. 7 Th. 1996).

Makanan dapat juga terkontaminasi oleh mikroba. Beberapa mikroba pembuat racun baik exotoxin maupun endotoxin, adalah yang tergolong Salmonella, Staphylococcus, Clostridium, Bacillus cocovenans, Bacillus cereus, dan lain-lainnya. Di Indonesia, dimana sanitasi makanan masih sangat rawan, keracunan akibat mikroba yang menimbulkan gejala gastero-intestinal (GI) masih sering didapat. (Soemirat,2009)

Penyakit bawaan makanan pada hakekatnya tidak dapat dipisahkan secara nyata dari penyakit bawaan air. Yang dimaksud dengan penyakit bawaan makanan adalah penyakit umum yang dapat diderita seseorang akibat memakan sesuatu makanan yang terkontaminasi mikroba patogen, kecuali keracunan.

Makanan dapat terkontaminasi mikroba karena beberapa hal diantaranya : mengolah makanan atau makan menggunakan tangan kotor, memasak sambil bermain dengan hewan peliharaan, menggunakan lap kotor untuk membersihkan meja dan perabotan, dapur dan alat masak makanan yang kotor, makanan yang sudah jatuh ke tanah masih dimakan, makanan disimpan tanpa tutup sehingga serangga dan tikus dapat menjangkaunya, makanan mentah dan matang disimpan

bersama-sama, makanan dicuci dengan air kotor, makanan terkontaminasi kotoran akibat hewan yang berkeliaran di sekitarnya, sayuran dan buah-buahan yang ditanam pada tanah yang terkontaminasi, memakan sayuran dan buah-buahan yang terkontaminasi, pasar yang kotor, banyak insektisida, dan sebagainya.

Terjadinya pencemaran dapat dibagi dalam 2 (dua) cara, yaitu :

1. Pencemaran langsung, yaitu adanya bahan pencemar yang masuk ke dalam makanan secara langsung, baik disengaja maupun tidak disengaja.

Contoh : masuknya rambut ke dalam nasi, penggunaan zat pewarna makanan, dan sebagainya.

2. Pencemaran silang, yaitu pencemaran yang terjadi secara tidak langsung sebagai akibat ketidaktahuan dalam pengolahan makanan.

Contoh : makanan bercampur dengan pakaian atau peralatan kotor, menggunakan pisau pada pengolahan bahan mentah untuk bahan makanan jadi (makanan yang sudah terolah) (Depkes RI, 1994).

2.4.2 Pengertian Higiene dan Sanitasi Makanan

Higiene dan sanitasi merupakan suatu tindakan atau upaya untuk meningkatkan kebersihan dan kesehatan melalui pemeliharaan diri setiap individu dan faktor lingkungan yang mempengaruhinya, agar individu terhindar dari ancaman kuman penyebab penyakit (Depkes RI, 1994).

Menurut Depkes RI (2004) higiene adalah upaya kesehatan dengan cara memelihara dan melindungi kebersihan individu subjeknya. Misalnya mencuci tangan untuk melindungi kebersihan tangan, cuci piring untuk melindungi

kebersihan piring, membuang bagian makanan yang rusak untuk melindungi keutuhan makanan secara keseluruhan.

Menurut Azrul Azwar, sanitasi adalah cara pengawasan masyarakat yang menitikberatkan kepada pengawasan terhadap berbagai faktor lingkungan yang mungkin mempengaruhi derajat kesehatan masyarakat (Azwar, 2000).

Sanitasi makanan adalah salah satu usaha pencegahan yang menitikberatkan kegiatan dan tindakan yang perlu untuk membebaskan makanan dan minuman dari segala bahaya yang dapat mengganggu kesehatan, mulai dari sebelum makanan diproduksi, selama dalam proses pengolahan, penyimpanan, pengangkutan, sampai pada saat dimana makanan dan minuman tersebut siap untuk dikonsumsi kepada masyarakat atau konsumen. Sanitasi makanan ini bertujuan untuk menjamin keamanan dan kemurnian makanan, mencegah konsumen dari penyakit, mencegah penjualan makanan yang akan merugikan pembeli, mengurangi kerusakan atau pemborosan makanan (WHO, 2007).

Langkah penting dalam mewujudkan higiene dan sanitasi makanan (Depkes, 2007), adalah :

- a. Mencapai dan mempertahankan hasil produksi yang sesuai dengan suhu hidangan (panas atau dingin).
- b. Penyajian, penanganan yang layak terhadap penanganan makanan yang dipersiapkan lebih awal.
- c. Memasak tepat waktu dan suhu
- d. Dilakukan oleh pekerja dan penjamah makanan yang sehat mulai dari penerimaan hingga distribusi

- e. Memantau setiap waktu suhu makanan sebelum dibagikan
- f. Inspeksi teratur terhadap bahan makanan mentah dan bumbu-bumbu sebelum dimasak
- g. Panaskan kembali suhu makanan menurut suhu yang tepat (74 °C)
- h. Menghindari kontaminasi silang antara bahan makanan mentah, makanan masak melalui orang (tangan), alat makan, dan alat dapur
- i. Bersihkan semua permukaan alat/ tempat setelah digunakan untuk makanan
- j. Perhatikan semua hasil makanan yang harus dibeli dari sistem khusus

2.4.3 Penyimpanan Makanan Masak

Makanan masak sangat disukai oleh bakteri karena suasananya cocok untuk tempat berkembang biaknya bakteri. Oleh karena itu, cara penyimpanannya harus memperhatikan wadah penyimpanan makanan masak (setiap makanan yang masak memiliki wadah yang terpisah, pemisah didasarkan pada jenis makanan dan setiap wadah harus memiliki tutup tetapi tetap berventilasi) (Depkes, 2007).

Menurut Depkes RI (1994) penyimpanan makanan dimaksudkan untuk mengusahakan makanan agar dapat awet lebih lama. Kualitas makanan yang telah diolah sangat dipengaruhi oleh suhu, dimana terdapat titik-titik rawan untuk perkembangbiakan bakteri patogen dan pembusuk pada suhu yang sesuai dengan kondisinya.

Dalam Kepmenkes RI No .1098/Menkes/SK/VII/2003, penyimpanan makanan jadi harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

1. Terlindung dari debu, bahan kimia berbahaya, serangga, tikus dan hewan lainnya.
2. Disimpan dalam ruangan tertutup dan bersuhu dingin (10° - 18° C).
3. Makanan cepat busuk disimpan dalam suhu panas $65,5^{\circ}$ C atau lebih, atau disimpan dalam suhu dingin 4° C atau kurang.
4. Makanan cepat busuk untuk penggunaan dalam waktu lama (lebih dari 6 jam) disimpan dalam suhu -5° C sampai dengan 1° C.
5. Tidak tercampur antara makanan yang siap untuk dimakan dengan bahan makanan mentah dan tidak disajikan ulang.

2.5 Kromatografi gas-Spektrometer Massa (GC-MS)

2.5.1 Defenisi Gas Cromatografy Mass Spectrometry (GC-MS)

Kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) adalah metode yang mengkombinasikan kromatografi gas dan spektrometri massa untuk mengidentifikasi senyawa yang berbeda dalam analisis sampel. Kromatografi gas dan spketometer masa memiliki keunikan masing-masing dimana keduanya memiliki kelebihan dan kekurangan. Dengan menggabungkan kedua teknik tersebut diharapkan mampu meningkatkan kemampuan dalam menganalisis sampel dengan mengambil kelebihan masing-masing teknik dan meminimalisir kekurangannya (Anonim, 2000).

Kromatografi gas dan spketometer masa dalam banyak hal memiliki banyak kesamaan dalam tekniknya. Untuk kedua teknik tersebut, sampel yang

dibutuhkan dalam bentuk fase uap, dan keduanya juga sama-sama membutuhkan jumlah sampel yang sedikit (umumnya kurang dari 1 ng). Disisi lain, kedua teknik tersebut memiliki perbedaan yang cukup besar yakni pada kondisi operasinya. Senyawa yang terdapat pada kromatografi gas adalah senyawa yang digunakan untuk sebagai gas pembawa dalam alat GC dengan tekanan kurang lebih 760 torr, sedangkan spektrometer massa beroperasi pada kondisi vakum dengan kondisi tekanan $10^{-6} - 10^{-5}$ torr (Anonim, 2000).

Gas kromatografi merupakan salah satu teknik spektroskopi yang menggunakan prinsip pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya. Gas kromatografi biasa digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang terdapat pada campuran gas dan juga menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam fase gas (Anonim, 2000).

2.5.2 Prinsip kerja

GC-MS adalah terdiri dari dua blok bangunan utama: kromatografi gas dan spektrometer massa . Kromatografi gas menggunakan kolom kapiler yang tergantung pada dimensi kolom itu (panjang, diameter, ketebalan film) serta sifat fase (misalnya 5% fenil polisiloksan). Perbedaan sifat kimia antara molekul-molekul yang berbeda dalam suatu campuran dipisahkan dari molekul dengan melewati sampel sepanjang kolom. Molekul-molekul memerlukan jumlah waktu yang berbeda (disebut waktu retensi) untuk keluar dari kromatografi gas, dan ini memungkinkan spektrometer massa untuk menangkap, ionisasi, mempercepat, membelokkan, dan mendeteksi molekul terionisasi secara terpisah.

Spektrometer massa melakukan hal ini dengan memecah masing-masing molekul menjadi terionisasi mendeteksi fragmen menggunakan massa untuk mengisi rasio (Soebagio, 2002).

2.5.3 Instrumen/alat :

1. Gas Chromatography (GC)

- **Injection port**

Dalam pemisahan dengan GLC cuplikan harus dalam bentuk fase uap. Tetapi kebanyakan senyawa organik berbentuk cairan dan padatan. Oleh karena itu, senyawa yang berbentuk cairan dan padatan pertama-tama harus diuapkan. Ini membutuhkan pemanasan sebelum masuk dalam kolom. Panas itu terdapat pada tempat injeksi. Namun demikian suhu tempat injeksi tidak boleh terlalu tinggi, sebab kemungkinan akan terjadi perubahan karena panas atau penguraian dari senyawa yang akan dianalisa. Kita juga tidak boleh menginjeksikan cuplikan terlalu banyak, karena GC sangat sensitif. Biasanya jumlah cuplikan yang diinjeksikan pada waktu kita mengadakan analisa 0,5 -50 ml gas dan 0,2 - 20 ml untuk cairan seperti pada gambar di bawah.

- **Oven**

Oven digunakan untuk memanaskan column pada temperature tertentu sehingga mempermudah proses pemisahan komponen sample. Biasanya oven memiliki jangkauan suhu 30°C – 320°C.

- Column

Kolom merupakan jantung dari kromatografi gas. Ada beberapa bentuk kolom, diantaranya lurus, bengkok, misal berbentuk V atau W, dan kumparan/spiral. Kolom selalu merupakan bentuk tabung. Berisi fasa diam, sedangkan fasa bergerak akan lewat didalamnya sambil membawa sample.

2. Mass Spectrometer (MS) sebagai detektor

- Sumber ion

Setelah analit melalui kolom kapiler, ia akan diionisasi. Ionisasi pada spektroskopi massa yang terintegrasi dengan GC ada dua, yakni *Electron Impact ionization* (EI) atau *Chemical Ionization* (CI), yang lebih jauh lagi terbagi menjadi negatif (NCI) dan positif (PCI). Berikutnya akan dijelaskan ionisasi EI. Ketika analit keluar dari kolom kapiler, ia akan diionisasi oleh elektron dari filamen *tungsten* yang diberi tegangan listrik. Ionisasi terjadi bukan karena tumbukan elektron dan molekul, tapi karena interaksi medan elektron dan molekul, ketika berdekatan. Hal tersebut menyebabkan satu elektron lepas, sehingga terbentuk ion molekular M^+ , yang memiliki massa sama dengan molekul netral, tetapi bermuatan lebih positif. Adapun perbandingan massa fragmen tersebut dengan muatannya disebut *mass to charge ratio* yang disimbolkan M/Z . Ion yang terbentuk akan didorong ke *quadrupoles* atau *mass filter*. *Quadrupoles* berupa empat elektromagnet.

- Filter

Pada *quadrupoles*, ion-ion dikelompokkan menurut M/Z dengan kombinasi frekuensi radio yang bergantian dan tegangan DC. Hanya ion dengan M/Z tertentu yang dilewatkan oleh *quadrupoles* menuju ke detektor.

- Detector

Detektor terdiri atas *High Energy Dynodes* (HED) dan *Electron Multiplier* (EM) *detector*. Ion positif menuju HED, menyebabkan elektron terlepas. Elektron kemudian menuju kutub yang lebih positif, yakni ujung tanduk EM. Ketika elektron menyinggung sisi EM, maka akan lebih banyak lagi elektron yang terlepas, menyebabkan sebuah arus/aliran. Kemudian sinyal arus dibuat oleh detektor proporsional terhadap jumlah ion yang menuju detektor.

3. Komputer

Data dari spektrometri masa dikirim ke computer dan diplot dalam sebuah grafik yang disebut spectrum masa.

2.5.4 Limitasi/Batasan

Secara umum, penggunaan metode GC-MS hanya terbatas untuk senyawa dengan tekanan uap berkisar 10^{-10} torr. Kebanyakan senyawa dengan tekanan lebih rendah hanya dapat dianalisis jika senyawa tersebut merupakan senyawa turunan (contoh, trimetilsili eter). Penentuan gugus fungsional pada cincin aromatic masih sulit. Untuk senyawa isomer tidak dapat dibedakan oleh

spektrometer (sebagai contoh : naftalena vs azulena), tapi dapat dipisahkan dengan kromatografi.

2.5.5 Sampel

Keadaan sampel harus dalam keadaan larutan untuk diinjeksikan ke dalam kromatografi. Pelarut harus bersifat volatile dan organik (sebagai contoh heksana atau diklorometana). Jumlah sampel bergantung pada metode ionisasi yang dilakukan, biasanya yang sering digunakan untuk analisis sensitivitas adalah sebesar 1 – 100 pg per komponen.

2.5.6 Keunggulan dari metode Gc-MS

1. Efisien, resolusi tinggi sehingga dapat digunakan untuk menganalisa partikel berukuran sangat kecil seperti polutan dalam udara.
2. Aliran fasa bergerak (gas) sangat terkontrol dan kecepatannya tetap.
3. Pemisahan fisik terjadi didalam kolom yang jenisnya banyak sekali, panjang dan temperaturnya dapat diatur.
4. Banyak sekali macam detektor yang dapat dipakai pada kromatografi gas (saat ini dikenal 13 macam detektor) dan respons detektor adalah proporsional dengan jumlah tiap komponen yang keluar dari kolom.
5. Sangat mudah terjadi pencampuran uap sampel kedalam fasa bergerak.
6. Kromatograf sangat mudah digabung dengan instrumen fisika-kimia yang lainnya, contohnya GC/FT-IR/MS.
7. Analisis cepat, biasanya hanya dalam hitungan menit.
8. Tidak merusak sampel.

9. Sensitivitas tinggi sehingga dapat memisahkan berbagai senyawa yang saling bercampur dan mampu menganalisa berbagai senyawa meskipun dalam kadar/konsentrasi rendah. Seperti dalam udara, terdapat berbagai macam senyawa yang saling bercampur dan dengan ukuran partikel/molekul yang sangat kecil.

2.5.7 Kelemahan dari metode Gc-MS

1. Teknik Kromatografi gas terbatas untuk zat yang mudah menguap
2. Kromatografi gas tidak mudah dipakai untuk memisahkan campuran dalam jumlah besar. Pemisahan pada tingkat mg mudah dilakukan, pemisahan pada tingkat gram mungkin dilakukan, tetapi pemisahan dalam tingkat pon atau ton sukar dilakukan kecuali jika ada metode lain.
3. Fase gas dibandingkan sebagian besar fase cair tidak bersifat reaktif terhadap fase diam dan zat terlarut.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

*Penelitian ini termasuk penelitian observasional. Penelitian ini menggunakan metode pendekatan cross sectional yaitu mengukur variabel bebas toksin bakteri *Staphylococcus aureus* dan variabel terikat Kromatografi gas-Spektrometer Massa (GC-MS) hanya satu kali pada suatu saat.*

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat dan waktu penelitian dilaksanakan di Balai Laboratorium Kesehatan Padang. Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Desember 2017 - April 2018.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah semua makanan yang sudah positif *Staphylococcus aureus*.

3.3.2 Sampel

Sampel yang akan diteliti adalah bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat makanan.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah : cawan petri, kapas, tabung reaksi, kawat ose, korek api, lampu spiritus, timbangan analitik,

mikroskop, kapas lidi steril, erlenmeyer, beaker glass, oven, inkubator, kertas label, pipet ukur, water bath, lumpang, alu, rak tabung reaksi, Kromatografi gas-Spektrometer Massa (GC-MS).

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : *mannitol salt agar* (MSA), HIB, aquades, larutan safranin, gentilen violet, iodin, minyak emersi, alcohol 96 %, methanol, diklorometan, etil asetat, dan etil asetat-isopropanol.

3.5 Prosedur Kerja

3.5.1 Sterilisasi Alat

Setelah alat dan bahan dipersiapkan kemudian seluruh alat yang akan digunakan dicuci bersih terlebih dahulu lalu dikeringkan dan dibungkus dengan koran lalu disterilisasi didalam autoclave selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan sebesar 1,5 atm.

3.5.2 Pengambilan Sampel

Sampel makanan yang telah terpapar bakteri *Staphylococcus aureus* di ambil secara aseptis kemudian dimasukan kedalam plastic steril. Setelah itu sampel di haluskan. Sampel di ambil sebanyak 10 gram kemudian ditambahkan 9 ml aquades kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. 1ml dari suspensi tersebut dipindahkan ke tabung lain yang berisi 9 ml aquades kemudian dihomogenkan menggunakan vortex untuk mendapatkan pengenceran 10⁻², selanjutnya dengan cara yang sama dibuat pengenceran 10⁻³, 10⁻⁴, dan 10⁻⁵.

3.5.3 Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Dari masing-masing pengenceran terakhir (pengenceran 10^{-3}) diambil 1ml untuk ditanam pada media Mannitol Salt Agar. Inkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Koloni akan tumbuh pada media tersebut (Soemarno, 1962).

3.5.4 Pewarnaan Gram

Pewarnaan garam adalah pewarnaan untuk identifikasi bakteri . Prosedur pewarnaan Gram Sediaan yang sudah difiksasi digenangi dengan gentian violet (gram A) diamkan selama 30 detik lalu dicuci , kemudian dilanjutkan dengan pewarnaan gram B (lugol) 30 detik lalu dicuci, setelah itu digenangi dengan gram C (alkohol) 2 detik lalu cuci lagi, kemudian lanjutkan dengan gram D (safranin) selama 30 detik , cuci lagi lalu keringkan dan amanti dibawah mikroskop dengan pembesaran 100X menggunakan minyak imersi (Heritage, 2000).

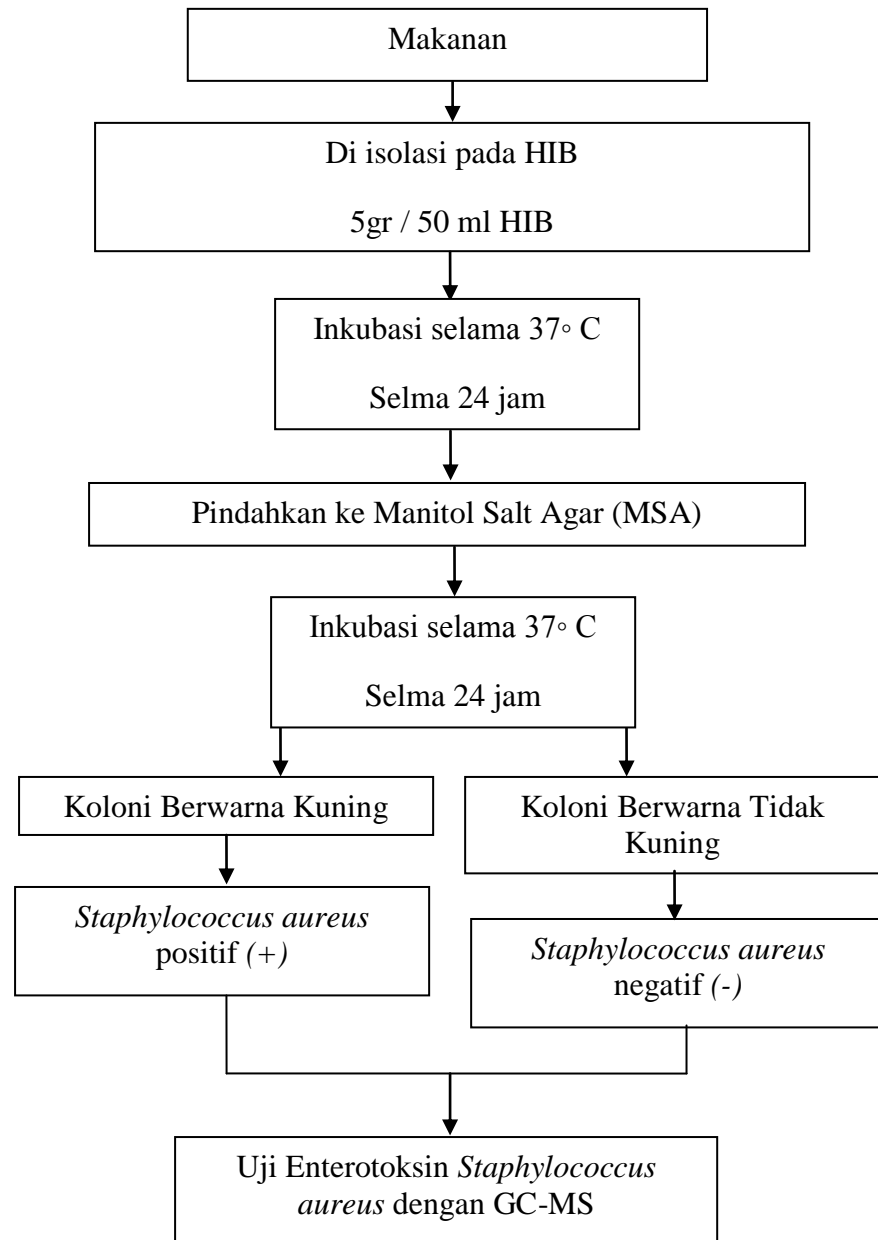
3.5.5 Uji Enterotoksin dengan Kromatografi gas-Spektrometer Massa

Sebanyak 0,5 g sampel dihaluskan. Kemudian di ekstraksi dengan 40 ml methanol dan di sentrifus. Cairan yang dihasilkan dielusi dengan 5ml diklorometan. Tambahkan 5ml etil asetat dan murnikan dengan 0,5g silica gel sehingga terbentuk 2 fraksi. Fraksi I dielusi dengan 15ml etil asetat. Fraksi II dielusi dengan etil asetat-isopropanol. Lalu campur kedua fraksi dan dievaporasi dengan es nitrogen sampai kering. Larutkan residunya dengan 80%astonitril (70:30). Ukur dengan Gc-Ms.

3.6 Analisa Data

Data penelitian akan disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

3.7 Alur Penelitian

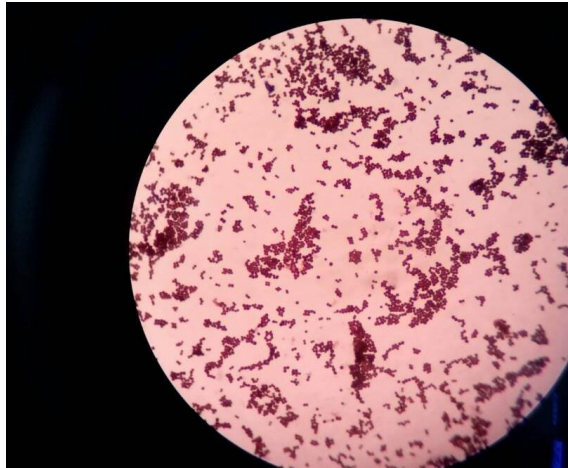


BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Identifikasi Karakteristik *Staphylococcus aureus*

4.1.1 Pewarnaan Gram



Gambar 4.1 Pewarnaan gram bakteri *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* pada pewarnaan gram bewarna ungu dan berbentuk bulat menyerupai bentuk buah anggur yang tersusun rapi dan tidak teratur satu sama lain.

4.1.2 Tes Koagulase



Gambar 4.2 Tes kolagulase bakteri *Staphylococcus aureus*

4.2 Karakteristik Sampel Makanan

Tabel 4.1 Karakteristik Sampel

<i>Kode Sampel</i>	<i>Nama Sampel</i>	<i>Banyak Sampel</i>
<i>Sampel 1</i>	<i>Ayam Bakar</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 2</i>	<i>Ikan Laut Bakar</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 3</i>	<i>Ikan Lele Goreng</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 4</i>	<i>Ayam Kecap</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 5</i>	<i>Tempe Goreng</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 6</i>	<i>Ikan Nila Bakar</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 7</i>	<i>Ayam Goreng</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 8</i>	<i>Telur Dadar</i>	<i>0,5 gram</i>
<i>Sampel 9</i>	<i>Ayam Gulai</i>	<i>0,5 gram</i>

Sampel makanan yang disiapkan adalah sampel makanan yang mengandung protein dan merupakan makanan olahan rumah. Sampel makanan yang akan di teliti tersebut sebelumnya dibiarkan terbuka selama 24 jam. Kemungkinan sampel makanan tersebut akan terkontaminasi oleh bakteri. Setelah 24 jam, biasanya makanan olahan tersebut terjadi beberapa perubahan, seperti bau dan rasa. Pada sampel ikan bahkan sampai berjamur dalam 24 jam.

Tabel 4.2 Sampel Sebagai Referens

<i>Kode Sampel</i>	<i>Nama Sampel</i>	<i>Banyak Sampel</i>
<i>Sampel A</i>	<i>Agam Gulai</i>	<i>0,5 gram</i>

2	1.642	<i>Heptanoic acid, ethyl ester (CAS) Ethyl heptanoate</i>
---	-------	---

Tabel B : Sampel yang digunakan adalah ayam gulai sebanyak 0,5 gram yang sudah ditambahkan strain bakteri *Staphylococcus aureus* dari isolat makanan dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil dari identifikasi digunakan sebagai pembandingan.

<i>Peak</i>	<i>R.Time</i>	<i>Name</i>
1	1.441	<i>METHYLAMINE-D2</i>
2	1.633	<i>Acetic acid, ethyl ester (CAS) Acetic acid ethyl ester (CAS) ethyl acetate</i>

Tabel 1 : Sampel yang digunakan adalah ayam bakar sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R.Time</i>	<i>Name</i>
1	1.800	<i>2-hydroxymethyl-3-methyl-oxirane</i>

Tabel 2 : Sampel yang digunakan adalah ikan bakar laut sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R.Time</i>	<i>Name</i>
1	1.800	<i>2-hydroxymethyl-3-methyl-oxirane</i>

Tabel 3 : Sampel yang digunakan adalah ikan lele goreng sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R.Time</i>	<i>Name</i>
1	1.800	<i>2-hydroxymethyl-3-methyl-oxirane</i>

Tabel 4 : Sampel yang digunakan adalah ayam kecap sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R.Time</i>	<i>Name</i>
1	1.651	<i>Acetic acid, ethyl ester (CAS) Acetic acid ethyl ester</i>
2	2.131	<i>(CAS) Ethyl acetate</i>
3	11.656	<i>2,2-dimethoxybutane</i>
4	13.995	<i>Pentadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl pentadecanoate</i>
5	14.597	<i>Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl Stearate</i>
6	14.884	<i>9,12-Octadecadien-1-ol (CAS) OCTADECA-9,12-DIEN-1OL</i>
7	16.751	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate</i>

Tabel 5 : Sampel yang digunakan adalah tempe goreng sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R.Time</i>	<i>Name</i>
1	1.647	<i>Acetic acid, ethyl ester (CAS) Acetic acid ethyl ester (CAS) Ethyl acetate</i>
2	1.859	<i>2-Butanone,3-hydroxy-(CAS) Acetoin</i>
3	2.156	<i>2,3-Butanediol (CAS) Butane-2,3-diol</i>
4	2.200	<i>2,3-Butanediol (CAS) Butane-2,3-diol</i>
5	14.645	<i>OCTADECA-9.12-DIEOIC ACID METHYL ESTER</i>

6	14.940	<i>10-Octadecenoic acid, methyl ester (CAS) METHYL OCTADEC-10-ENOATE</i>
7	15.081	
8	15.150	
9	15.892	<i>Ocradecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate</i>
10	16.725	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate</i>

Tabel 6 : Sampel yang digunakan adalah ikan nila bakar sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R. Time</i>	<i>Name</i>
1	1.649	<i>Acetic acid, Ethyl ester (CAS)</i>
2	14.606	<i>7,10-Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)</i>
3	14.884	<i>9-Octadecenoic acid (Z) Methyl ester</i>

Tabel 7 : Sampel yang digunakan adalah ayam goreng sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R.Time</i>	<i>Name</i>
1	1.653	<i>Acetic acid, Ethyl ester (CAS)</i>
2	16.731	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester</i>

Tabel 8 : Sampel yang digunakan adalah ayam telur dadar sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

<i>Peak</i>	<i>R. Time</i>	<i>Name</i>
1	1.652	<i>Acetic acid, ethyl ester (CAS) Acetic acid ethyl ester</i>
2	11.656	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)</i>
3	14.598	<i>Cyclopropaneoctanoic acid</i>
4	14.879	<i>10-Octadecenoic acid, methyl ester</i>
5	16.729	<i>Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS)</i>

Tabel 9 : Sampel yang digunakan adalah ayam gulai dadar sebanyak 0,5 gram dan dibiarkan selama 24 jam.

BAB V

PEMBAHASAN

5.1 Pembahasan

Hasil identifikasi Toksin *Staphylococcus aureus* pada makanan ditujukan pada tabel 1-9. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa hampir setiap sampel menghasilkan asam dan beberapa senyawa asam lainnya pada sampel yaitu : Dodecanoic acid, ethanethioic acid, octadecanoic acid, acetic acid.

Tabel A dan tabel B digunakan sebagai pembanding hasil penelitian. Tabel A digunakan sampel ayam gulai yang sudah dibiarkan terbuka selama 24 jam dan pada hasil penelitian tabel B digunakan sampel Ayam gulai yang dibiarkan selama 24 jam dan ditambahkan strain *Staphylococcus aureus* dari isolat makanan. Kedua pembanding menunjukkan hasil beberapa asam.

Menurut Vhatia dan Zahoor, Enterotoksin *Staphylococcus aureus* merupakan kelompok protein globular rantai tunggal yang bersifat antigenik dan berat molekul rendah. *Staphylococcus* Enterotoksin bersifat larut dalam air dan tahan terhadap panas (termotabil) serta kaya akan residu lain seperti lisin, asam aspartat, asam glutamat dan tirosin.

Terdapatnya *Staphylococcus aureus* dalam jumlah besar pada makanan tidak berarti bahwa enterotoksin dihasilkan (Fosythe dan Hayes, 1998). Ketidakberadaan *Staphylococcus aureus* atau jumlah *Staphylococcus aureus* yang sedikit menjamin makanan aman (Lancette dan Bennet, 2001).

Hanya sekitar 30% dari galur *Staphylococcus aureus* yang menghasilkan enterotoksin, yang dilepaskan ke makanan sehingga beresiko menyebabkan keracunan makanan (*food intoxication*) pada konsumen (Forsythe dan Hayes, 1998). Keenam enterotoksin tersebut adalah A, B, C1, C2, D dan E (SEA, SEB, dan lain-lain), yang mana tipe A dan D banyak ditemukan di makanan.

Sejumlah besar *Staphylococcus aureus* pada makanan dibutuhkan untuk menyebabkan kejadian keracunan makanan agar menghasilkan jumlah enterotoksin yang cukup, namun jumlahnya tidak pasti. Namun jumlahnya tidak pasti. Jumlah *Staphylococcus aureus* penghasil enterotoksin yang dapat menyebabkan keracunan makanan diduga jika melebihi $\geq 10^6$ sel/g yang diperkirakan menghasilkan enterotoksin sebanyak 1 μ g. Jumlah 1 μ g cukup untuk menyebabkan gejala klinis pada orang dewasa, sedangkan pada anak-anak cukup dibutuhkan 0,2 μ g (Forsythe dan Hayes, 1998).

Makanan yang terkontaminasi *Staphylococcus aureus* akan menimbulkan gejala klinis utamanya adalah muntah yang didahului oleh rasa mual. Frekuensi muntah dapat meningkat sesuai dengan rasa mual yang muncul. Gejala klinis yang lain yang biasanya muncul adalah keram dan diare (Forsythe dan Hayes, 1998). Respon muntah terjadi karena adanya enterotoksin dari *Staphylococcus aureus* yang sering dikategorikan ke dalam neurotoksin berbahaya. Enterotoksin tersebut dapat menimbulkan respon muntah karena dapat mengaktifkan reseptor yang ada di usus yang akan menstimulasi pusat muntah di otak melalui *nervus vagus* dan simpatis (Adams dan Moss, 2008).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian tentang identifikasi enterotoksin bakteri *Staphylococcus aureus* pada makanan dapat diambil kesimpulan :

Untuk uji enterotoksin pada makanan yang sudah terkontaminasi bakteri *Staphylococcus aureus* di dapat ada beberapa senyawa asam yang diduga sebagai toksin yang ditemukan yaitu :

1. Dodecanoic acid
2. Ethanethioic acid
3. Octadecanoic acid
4. Acetic acid

Hasil penelitian bisa saja dipengaruhi oleh teknik kromatografi gas yang terbatas untuk zat yang mudah menguap, dan Kromatografi gas tidak mudah di pakai untuk memisahkan campuran dalam jumlah besar.

6.2 Saran

Disarankan kepada penelitiselanjutnya untuk menggunakan metode dan sampel-sampel yang lebih beragam dalam menentukan enterotoksin bakteri *Staphylococcus aureus* pada makanan agar menemukan pembanding. Selanjutnya

untuk dapat memperhatikan faktor-faktor yang menjadi penghambat dalam penelitian seperti suhu, batas uap, dan banyak sampel.

DAFTAR PUSTAKA

- Albrecht JA, Summer SS.1995. *Staphylococcus aureus*, Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska Lincoln.
- Azwar, Azrul. (1990), *Pengantar Ilmu Kesehatan Lingkungan*, Yayasan Mutiara. Jakarta.
- Forsythe, S.J., & Hayes, P.R. (1998). *Food hygiene, microbiology and haccp*. Edisi ke-3. Maryland. Aspen Publishers, Inc.
- Gorman R, Bloomfield S, Adley CC. 2002. A Study of cross-contamination of foodborne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. *Int J Food Microbiol* 76:143-150
- Kompas, 68 Warga Simalungun Keracunan Makanan Nasi Kotak, terbit tanggal 24 Maret 2017
- Lancette GA, Bennet RW. 2001 *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcal Enterotoxins*. Dalam Downes FP, Ito K, editor, *Compendium of Methods of The Microbiological Examination of Foods*. Ed ke-4. Washington: American Public Health Association.
- Meggitt C. 2003. *Food hygiene and safety*. Oxford: Heinemann Educational Pub.
- Notoadmodjo, S. 2003 *Pengantar Perilaku Kesehatan : Jurusan Kesehatan Masyarakat*. Jakarta : Universitas Indonesia
- Putra Prabu, *Hygiene dan Sanitasi Makanan*, Wordpress.com :2008
- Sievert DM, Boulton ML, Stoltman G, Johnson D, Stobierski MG, Downes FP, Somsel PA, Rudrik JT (2002) *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin – United States, 2002. *MMWR* 51:565-567