

ELIMINASI BAKTERI PATOGEN STAPHYLOCOCCUS
AUREUS DALAM DAGING AYAM DENGAN RADIASI
GAMMA

ANDINI, L.S, HARSOJO DAN ROSALINA, S.H

ELIMINASI BAKTERI PATOGEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DALAM DAGING AYAM DENGAN IRADIASI GAMMA.

Andini, L.S. , Harsojo dan Rosalina, S.H.

ABSTRAK

ELIMINASI BAKTERI PATOGEN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* DALAM DAGING AYAM DENGAN IRADIASI GAMMA. Tujuan penelitian ini adalah mengisolasi dan mengidentifikasi serta mencari dosis dekontaminasi bakteri *S. aureus* pada daging ayam dengan iradiasi gamma. Sampel daging ayam dibeli dari pasar tradisional dan swalayan di daerah Jakarta. Tiap sampel diinokulasi pada media agar selektif *Baird Parker* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Koloni yang tumbuh dan berwarna hitam merupakan koloni tersangka *S. aureus*. Koloni tersebut diisolasi lalu diidentifikasi ke arah *S. aureus* secara biokimiawi dan serologi. Isolat yang telah teridentifikasi sebagai *S. aureus* direinokulasi ke dalam daging ayam yang telah diiradiasi dengan dosis 15 kGy, kemudian diiradiasi dengan dosis 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; dan 7 kGy pada suhu atmosfer 0°C dengan laju dosis 5 kGy/jam serta dosis 0; 1; 3; 5; 7; dan 9 kGy pada suhu -79°C dengan laju dosis 7 kGy/jam. Setelah diiradiasi diinokulasikan ke dalam media agar nutrisi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Bakteri yang tumbuh dihitung dan ditetapkan nilai D_{10} nya. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada semua sampel daging ayam yang diteliti ditemukan bakteri *S. aureus*. Nilai D_{10} dalam daging ayam pada suhu es sebesar 0,4-1,0 kGy sedangkan pada es kering adalah sebesar 0,7-1,1 kGy. Dosis dekontaminasi adalah sebesar 6,0-6,6 kGy apabila kontaminasi awalnya sebesar 10^6 koloni/g.

ABSTRACT

ELIMINATION PATHOGENIC BACTERIA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ON CHICKEN MEAT BY GAMMA IRRADIATION. The purpose of this experiment were isolation and identification of and to determine the suitable dose to decontaminate chicken meat from pathogenic *S. aureus* using gamma irradiation . Chicken meats were obtained from traditional markets and supermarkets in Jakarta. Each samples were inoculated on selective media Baird Parker agar and incubated at 37°C for 2 x 24 h. The isolate found with black color were determined as *S. aureus*. These colonies were isolated and identified using biochemical methods followed by serological test to determine their serotypes. Identified isolate was reinoculate into sterilised chicken meat at 15 kGy and irradiated using gamma rays at doses of 0; 1; 2; 3; 4; 5; 6; and 7 kGy with the dose rate of 5 kGy/h in ice at 0°C, and at doses of 0; 1; 3; 5; 7; and 9 kGy with the dose rate of 7 kGy/h in dry ice at -79°C. The irradiated bacteria was inoculated on nutrient agar media and incubated at 37°C for 2 x 24 h . Results shows that *S. aureus* were found in all samples, D_{10} value of the bacteria in chicken meat at 0° C was 0.4 to 1.0 kGy while at dry ice was 0.7 to 1.1 kGy. The decontamination dose was 6 to 6.6 kGy with the initial contamination 10^6 colony/g.

PENDAHULUAN

Kondisi kesehatan yang memadai dari setiap individu masyarakat merupakan salah satu kebutuhan dasar manusia agar mereka mampu hidup berkarya dan produktif dalam era globalisasi dan dalam krisis ekonomi saat ini. Orang berpikir agar bisa bertahan hidup dengan kondisi kesehatan yang baik, karena saat ini juga terjadi krisis obat obatan sehingga diupayakan hidup sehat dengan pola makan yang sehat, bersih dan murah.

Untuk mengimbangi hal tersebut kita harus mengkonsumsi makanan yang sehat dan higienik. Untuk tujuan tersebut persediaan makanan diupayakan bebas dari bakteri patogen, yang dapat menyebabkan kesehatan terganggu. Oleh karena itu para produsen makanan untuk menghasilkan makanan yang bebas bakteri patogen tersebut, diupayakan dengan bermacam-macam cara antara lain pemanasan dengan suhu tinggi, pengasapan, pengasinan maupun kadar gula yang tinggi dan dengan cara non konvensional yaitu dengan cara iradiasi. Bahan makanan tersebut yang sudah terkontaminasi dengan bakteri patogen misalnya Salmonella, *S. aureus*, Listeria dan lain-lain akan berbahaya apabila dikonsumsi oleh manusia sehingga akan menyebabkan penyakit (1). *S. aureus* merupakan bakteri yang perlu diteliti karena merupakan sumber keracunan makanan diseluruh dunia. Di Amerika Serikat dari tahun 1983 –1987 terjadi 47 epidemi, 3181 kasus diantaranya disebabkan oleh bakteri tersebut yang berasal dari daging sapi, babi, kalkun dan *poultry salad* atau *chicken salad*. Sifat karakteristik *S. aureus* ialah bentuk kokus pendek, berantai atau bentuk rangkaian seperti anggur, pada pewarnaan Gram bereaksi positif, menghasilkan toksin, yang stabil terhadap panas, menimbulkan penyakit pada manusia. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini disebut Staphyloenterotoksikosis karena ada enterotoksin yang dihasilkan (2) Adapun waktu inkubasi gejala penyakit yang ditimbulkan adalah sangat cepat. Beberapa kasus akut terjadi tergantung kepekaan tiap individual terhadap toksin dan jumlah makanan yang terkontaminasi termakan serta jumlah toksin yang dicerna. Penyakit ini akan timbul apabila dalam makanan yang terkontaminasi mengandung *S. aureus* minimal 0,1 ug enterotoksin A yang termakan oleh manusia. Penggunaan iradiasi pengion untuk tujuan eliminasi *foodborne pathogen* pada daging dan *poultry* berhasil baik, juga termasuk

perlakuan terhadap *S. aureus*. Informasi tentang efek iradiasi gamma terhadap Staphylococci terutama pada daging masih sangat terbatas (3).

Tujuan dari penelitian ini ialah untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri patogen *S. aureus* dan menetapkan dosis dekontaminasi terhadap iradiasi pada daging ayam.

BAHAN DAN TATAKERJA

Bahan

Persiapan Sampel. Sampel daging ayam dibeli dari pasar tradisional dan swalayan di wilayah Jakarta. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini ialah isolat *S. aureus* yang diisolasi dari daging ayam serta strain standar yang diperoleh dari koleksi strain pada Sekolah Pendidikan Ahli Madya Analisis Bandung.

Media yang digunakan ialah media selektif *Baird Parker*, dan pepton untuk larutan pengencer. Media untuk uji biokimia antara lain untuk uji gula-gula, pewarnaan gram, urease, TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), serta uji koagulase dengan koagulase plasma EDTA. Media yang digunakan untuk pemeliharaan strain ialah agar nutrien dan larutan nutrien. Media yang digunakan semua buatan Difco.

Tata kerja

Isolasi Bakteri. Dua puluh lima gram sampel daging ayam dicincang lalu dimasukkan ke dalam 225 ml 0,1 % air pepton (b/v) dikocok, kemudian diencerkan secara bertingkat dengan air pepton dan 0,1 ml suspensi tersebut diinokulasikan pada media agar *Baird Parker* (Difco) dan diratakan dengan gelas *spreader*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Koloni yang berwarna hitam sebagai koloni tersangka *S. aureus*, lalu diisolasi dan diidentifikasi secara biokimiawi dan serologi ke arah *S. aureus* (4). Isolat yang telah

diidentifikasi diiradiasi untuk menentukan nilai D_{10} serta menetapkan dosis dekontaminasinya.

Cara Iradiasi. Cara iradiasi dilakukan seperti pada penelitian terdahulu (5 dan 6). Isolat yang sudah diidentifikasi dan diketahui serotipnya dimurnikan dan ditumbuhkan pada agar miring. Kultur pertama yang sudah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dipindahkan ke dalam 100 ml nutrisi cair dan diinkubasi selama 16-18 jam. Selanjutnya kultur disentrifus dan endapannya diencerkan untuk diinokulasikan secara aseptis ke dalam daging ayam dalam kantong plastik yang sudah diiradiasi dengan dosis 15 kGy, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C , kemudian disimpan dalam lemari pendingin semalam dan kemudian diiradiasi. Setelah diiradiasi sampel diencerkan bertingkat untuk ditanam pada media nutrisi agar. Koloni yang tumbuh dihitung untuk menentukan nilai D_{10} masing-masing isolat.

Penetapan Nilai D_{10} dilakukan seperti penelitian RASHID *et al.* disitasi ANDINI *dkk.* (6), yaitu dibuat kurva antara jumlah koloni yang tumbuh dan dosis iradiasi yang digunakan, kemudian ditarik garis ekstrapolasi sehingga didapatkan nilai tersebut. Nilai D_{10} ialah nilai dosis iradiasi yang diperlukan untuk mereduksi jumlah mikroba sebanyak 1 desimal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sifat karakteristik *S. aureus* ialah bentuk kokus pendek, berantai atau bentuk rangkaian seperti anggur, pada pewarnaan Gram bereaksi positif, menghasilkan toksin, yang stabil terhadap panas, menimbulkan penyakit pada manusia. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini disebut Staphyloenterotoksikosis karena enterotoksin yang dihasilkannya. (2)

Tabel 1. Reaksi biokimiawi uji identifikasi isolat.

Isolat	Glukosa	Laktosa	Maltosa	Manosa	Pew. Gram	Urease	TSIA	Koagulase
I	+	±	±	±	+	-	-	+
II	+	+	+	+	+	-	-	+
III	+	+	±	+	+	-	-	+
IV	+	+	±	+	+	-	-	+
V	+	+	+	+	+	-	-	+
Standar	+	+	+	+	+	-	-	+

Pada Tabel 1 terlihat bahwa standar *S. aureus* yang digunakan dapat menfermentasi gula-gula seperti glukosa, laktosa, maltosa dan manosa serta memberikan pewarnaan gram positif. Hasil isolat no I-V menunjukkan mampu menfermentasi gula-gula dan menunjukkan pewarnaan yang sama seperti strain standar. Strain standar maupun isolat yang diperoleh tidak mampu mengurai urea dan TSIA. Akan tetapi menunjukkan koagulase yang positif, dan juga tidak memproduksi H₂S. Perbedaan sifat bakteri ini dengan *Salmonella sp.* ialah menghasilkan H₂S dan bereaksi negatif pada pewarnaan gram.

Senyawa beracun yang diproduksi *S. aureus* disebut enterotoksin dan dapat terbentuk dalam makanan karena pertumbuhan bakteri tersebut. Enterotoksin sangat stabil terhadap panas. Menurut Bennett (7), *S. aureus* menghasilkan 5 tipe toksin yaitu enterotoksin A, B, C, D, dan E. Enterotoksin tipe B merupakan enterotoksin yang paling stabil terhadap panas. Pemanasan yang dilakukan pada proses pemanasan normal tidak akan mampu menonaktifkan toksin tersebut dan tetap akan dapat menyebabkan keracunan. Sumber

penularan *S. aureus* adalah manusia atau hewan melalui hidung, tenggorokan, kulit dan luka yang bernanah (8).

Produksi toksin dari bakteri *S. aureus* tergantung dari lingkungan substratnya dan toksin ini sifatnya cukup mematikan. Gejalanya adalah muntah, kejang, peristaltik yang kuat, kadang – kadang diikuti pusing, tekanan darah dan detak jantung yang cepat, dan bisa terjadi 2-6 jam setelah mengkonsumsi makanan yang telah terkontaminasi oleh *S. aureus*. Penyembuhan umumnya terjadi dalam 2 hari akan tetapi kadang-kadang penyembuhannya memerlukan waktu lebih lama.

Penyakit yang disebabkan oleh tertelannya toksin yang dihasilkan oleh pertumbuhan bakteri yang hidup dalam makanan. Gejalanya sangat beraneka ragam mulai dari diare sampai kerusakan pusat susunan syaraf yang termasuk jenis bakteri. Penyebab penyakit tersebut antara lain oleh *S. aureus*.

Food borne disease adalah penyakit pada manusia yang disebabkan oleh bakteri yang berasal dari makanan. Bakteri ini timbul karena bakteri berkembangbiak di dalam alat pencernaan yang kemudian menimbulkan gejala kejang, diare, dan dalam keadaan yang parah dapat terjadi septicemia (keracunan darah). Contoh bakteri yang tergolong patogen adalah koliform, *Campylobacter* dan *Salmonelia* (9).

Makanan yang mengandung 30 – 60 ug toksin *S. aureus* dapat dideteksi dengan menggunakan poliklonal atau monoklonal antibodi (10) atau dengan *microslide gel double diffusion* teknik.

Tabel 2 menggambarkan bahwa dari semua sampel di daerah Jakarta terdapat bakteri *S. aureus* dan jumlah kontaminasi awal berkisar antara $7,46 \times 10^4$ – $4,54 \times 10^6$ koloni/g. Apabila bakteri kontaminan telah menghasilkan toksin dapat mengakibatkan keracunan pada

konsumen karena toksin yang dihasilkan mempunyai sifat stabil terhadap panas. Walaupun demikian *S. aureus* yang ada dalam daging ayam mungkin belum menghasilkan toksin, hal ini tergantung substrat dimana bakteri hidup.

Tabel 2. Jumlah kontaminasi awal *Staphylococcus sp.* dalam daging ayam dari tiap sampel pada berbagai lokasi.

No. kode isolat	Asal sampel	Kontaminasi awal (Jumlah kol/g)
I	Jakarta Selatan	$(7,46 \pm 2,04) 10^4$
II	Jakarta Barat	$(4,54 \pm 0,66) 10^6$
III	Jakarta Timur	$(2,46 \pm 0,52) 10^6$
IV	Jakarta Pusat	$(2,56 \pm 0,66) 10^6$
V	Jakarta Utara	$(1,44 \pm 0,48) 10^6$

Adanya *S. aureus* pada semua sampel di daerah Jakarta menunjukkan bahwa sanitasi kurang mendapat perhatian. Kemungkinan lain adalah terjadinya kontaminasi silang dari daging yang semula diduga belum tercemar kemudian diletakkan di dekat dengan bahan lain yang sudah tercemar *S. aureus* atau pada waktu transportasi, penanganan termasuk pemotongan, pencucian dan lain sebagainya kurang diperhatikan sanitasinya. Hal seperti ini sering terjadi pada usaha makanan jasa boga karena banyaknya makanan jadi dan bahan makanan yang belum dimasak diletakkan berdekatan sehingga terjadi kontaminasi silang pada makanan tersebut (11).

Menurut penelitian Thayer (3) dosis iradiasi dibawah 3 kGy akan dapat mengeliminasi *S. aureus* dan mencegah terbentuknya toksin. *S. aureus* lebih tahan terhadap iradiasi dibandingkan dengan Salmonella.

Infeksi adalah suatu istilah yang digunakan bila seseorang setelah mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung bakteri patogen mendapat gejala - gejala penyakit. Keracunan yang disebut intoksifikasi disebabkan mengkonsumsi makanan yang telah mengandung senyawa beracun yang diproduksi oleh mikroba baik bakteri maupun kapang.

Beberapa senyawa racun yang dapat menyebabkan intoksifikasi adalah bakteri *Clostridium botulinum*, *S. aureus* dan *Pseudomonas cocovenenans*. Sedangkan yang berasal dari kapang disebut mikotoksin yang dihasilkan oleh *Penicillium sp.*, dan *Aspergillus flavus* (9).

Tabel 3. Nilai D₁₀ (kGy) *S. aureus* dalam daging ayam yang berasal dari berbagai lokasi.

No. kode isolat	Es kering (-79°C)	Es (0°C)
I	0,70 ± 0,07	1,09 ± 0,71
II	1,10 ± 0,14	0,50 ± 0,14
III	0,90 ± 0,28	0,50 ± 0,21
IV	1,00 ± 0,14	0,60 ± 0,07
V	0,90 ± 0,14	1,00 ± 0,07
Standar	0,70 ± 0,21	0,40 ± 0,04

Nilai D_{10} adalah dosis iradiasi yang dapat mengeliminasi total bakteri sebesar 1 desimal (12). Sedangkan dosis dekontaminasi adalah dosis iradiasi yang diperlukan untuk mendekontaminasi sejumlah tertentu bakteri patogen yang mengkontaminasi pada makanan.

Nilai D_{10} dari isolat yang didapat ditunjukkan pada Tabel 3. Isolat yang berasal dari daerah Jakarta Barat dan Timur mempunyai nilai D_{10} yang paling rendah setelah strain standar yaitu sebesar 0,5 kGy, sedangkan isolat yang berasal dari daerah Jakarta Selatan dan Utara merupakan isolat yang lebih tahan terhadap iradiasi yaitu sebesar 1,0 kGy pada kondisi iradiasi suhu es. Sedangkan iradiasi pada kondisi es kering yang paling tahan ialah isolat yang berasal dari daerah Jakarta Barat yaitu sebesar 1,1 kGy dan isolat yang berasal dari daerah Jakarta Selatan mempunyai kepekaan yang paling rendah setelah strain standar yaitu sebesar 0,7 kGy. Dari Tabel tersebut terlihat bahwa strain standar merupakan strain yang paling peka terhadap iradiasi dibandingkan isolat lainnya. Hal ini mungkin disebabkan strain standar sudah mengalami beberapa kali subkultur sehingga ketahanannya menurun terhadap iradiasi.

Isolat yang diiradiasi pada suhu es kering lebih tahan terhadap iradiasi dibandingkan dengan pada suhu es. Hal ini disebabkan pada keadaan beku radikal hidroksil hasil radiolisis air mobilitasnya terbatas sehingga radikal tersebut tidak dapat langsung mempengaruhi kehidupan bakteri yang mengakibatkan bakteri lebih tahan terhadap iradiasi (13 dan 14).

Menurut penelitian Erdman *et al.* disitasi Thayer (3) melakukan iradiasi terhadap bakteri *S. aureus* yang diinokulasi pada potongan daging sapi akan tetapi tidak menghitung nilai D_{10} nya. Thayer (2) mendapatkan nilai D_{10} dalam cairan nutrien yaitu sebesar 0,52 kGy. *S. aureus* lebih tahan terhadap iradiasi gamma dibandingkan dengan *Salmonella*. *S. aureus* yang

sudah terpenetrasi ke dalam daging lebih tahan terhadap iradiasi dibandingkan dalam cairan makanan.

Nilai D_{10} untuk Salmonella pada MDCM (*Mechanically Deboned Chicken Meat*) adalah sebesar 0,37 - 0,77 kGy. Dosis iradiasi minimal yang direkomendasikan di Amerika Serikat untuk unggas adalah 1,5 kGy dan dosis maksimal 3 kGy. Nilai D_{10} *S. aureus* lebih rendah pada daging kambing dibandingkan pada MDCM dan daging lainnya (13).

Dengan demikian dosis dekontaminasi *S. aureus* adalah sebesar 6,0-6,6 kGy dengan asumsi kontaminasi awal 10^6 koloni/g. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor. 826/MENKES/PER/XII/87 yang telah diperbarui lagi dengan Keputusan Menteri Kesehatan RI Nomor. 152/MENKES/SK/II/1995 antara lain telah mengizinkan udang dan paha kodok beku diiradiasi sampai 7 kGy, dan biji-bijian sampai 5 kGy. Oleh karena itu, untuk menghambat atau mematikan bakteri patogen dengan iradiasi sebesar 6,6 kGy masih di bawah dosis iradiasi yang diizinkan oleh Menteri Kesehatan RI (15).

Dosis yang direkomendasikan di Amerika Serikat lebih rendah dari di Indonesia karena sanitasinya lebih baik sehingga kontaminasi awal lebih rendah, oleh karena itu dosis yang diperlukan untuk mendekontaminasi bakteri juga lebih rendah.

KESIMPULAN

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada semua sampel daging ayam yang diteliti ditemukan bakteri *S. aureus*. Nilai D_{10} dalam daging ayam pada suhu es sebesar 0,4-1,0 kGy sedangkan pada es kering adalah sebesar 0,7-1,1 kGy. Dosis dekontaminasi adalah sebesar 6,0-6,6 kGy apabila kontaminasi awalnya sebesar 10^6 koloni/g.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada saudara Anastasia S.D. dan Radi Harsono yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

1. ITO, H., Food borne disease and isolation of pathogenic bacteria , Bahan ceramah di PAIR, BATAN, Jakarta 22 November 1994 (1994).
2. ANONYMOUS, "Bad Bug Book" USFDA Centre for Food Society 7 Applied Nutrition Food Borne Pathogenic Microorganism and Natural Toxins Hand Book. *Staphylococcus aureus*. (1992).
3. THAYER, D.W., and BOYD, G., Gamma processing to destroy *Staphylococcus aureus* in mechanically deboned chicken meat, J. of Food Science 57 4 (1992) 848.
4. BENNETT, R.W., and LANCETTE, G.A., Chapter 12. *Staphylococcus aureus* FDA. Bacteriological Analytical Manual 8 th edition (1995).
5. ANDINI, L.S., Pertumbuhan optimal bakteri patogen Salmonella dan dekontaminasinya pada daging ayam dengan iradiasi gamma . Presentasi Ilmiah., PAIR, BATAN, 12 Desember 1995 (1995).
6. ANDINI, L.S., HARSOJO, dan ROSALINA, S.H., " Identifikasi bakteri patoge Salmonella spp. dalam daging dan jeroan dan dekontaminasinya dengan iradiasi gamma", Seminar Nasional Biologi XV, Perhimpunan Biologi Indonesia, Bandar Lampung 24-26 Juli 1997 (1997).
7. BENNETT, R.W., Chapter 13. Staphylococcal enterotoxins. FDA. Bacteriological Analytical Manual.8 th edition. (1995).
8. WINARNO, F.G., Sterilisasi komersial produk pangan, P.T. Gramedia Pustaka Utama Jakarta (1994).
9. WINARNO, F.G., Kimia Pangan dan Gizi, Penerbit P.T. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta (1995).
10. THOMAS, L.V., and WIMPENNY, J.W.T., Investigation of the effect combined variations in temperature , pH and NaCl concentration on Nissin inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*, App. And Env. Mic. June (1996) 2006..

11. SRI POERNOMO, Standar higiene dan keamanan pangan, Bahan penataran manajemen usaha jasa boga, IPB, BOGOR. (1995).
12. EIFERT, J.D., GENNINGS, C., HANS CARTER, W. JR., DUNCAN, S.E., and HACKNEY, C.R., Predictive models with improved statistical analysis of interactive factors affecting the growth of *Staphylococcus aureus* 196 E, J. of Food Protection 59 6 (1996) 608.
13. THAYER, D.W., BOYD, G., FOX, J.E., LAKRITZ, L., and HAMPSON, J.W., Variation in radiation sensitivity of food borne pathogen associated with the suspending meat, J. of Food Science 60 1 (1995).
14. KIM, A.Y., and THAYER, D.W., Radiation induced cell Lethality of *Salmonella typhimurium* ATCC 14038. Cooperative effect of hydroxyl radical and oxygen. Radiation Research 144 (1995)36.
15. PERMENKES, Iradiasi makanan, nomor 162/MENKES/PER/XII/87 (1987).