



Deteksi Cemaran *Coliform* Dan *Staphylococcus aureus* Pada Saus Tomat Yang Digunakan Oleh Pedagang Bakso Tusuk Di Kota Yogyakarta

Siagian P.B.I.^{1*}, Budiarmo T.Y.^{1**}, Amarantini C.¹, Prihatmo G.¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana. Jl. Dr. Wahidin Sudirohusodo No. 5-25, Yogyakarta 55224, Yogyakarta, Indonesia. Tel./fax.: +62-274-563929

*Email: yahya@staff.ukdw.ac.id

ABSTRAK

Saus tomat adalah suatu bahan pelengkap yang sering digunakan untuk berbagai jenis makanan dan cukup disukai oleh masyarakat Indonesia sehingga selalu disediakan di setiap tempat kuliner. Namun, masih banyak pihak penjual yang tidak memperhatikan higienitas penyajian saus tomat sehingga sering kali menimbulkan gangguan pencernaan pada konsumennya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya cemaran bakteri Coliform dan *Staphylococcus aureus* pada saus tomat di Kota Yogyakarta. Sampel saus tomat diambil dari 5 pedagang kaki lima (PKL) yang berbeda di Kota Yogyakarta dan 5 jenis saus dalam kemasan dari supermarket. Sebanyak 10 sampel saus tomat ditumbuhkan ke dalam medium selektif berupa Chromocult Coliform Agar (CCA) untuk memperoleh bakteri terduga Coliform, Baird Parker Agar (BPA) untuk memperoleh bakteri terduga *Staphylococcus aureus*. Koloni bakteri Coliform yang tumbuh pada medium CCA berwarna merah, biru gelap, biru terang, dan bakteri non-Coliform berwarna putih. Sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* pada medium BPA berwarna abu hingga kehitaman dengan tepi koloni putih dan dikelilingi zona terang, yang kemudian ditumbuhkan ke dalam medium Mannitol Salt Agar (MSA) untuk memperoleh koloni tunggal. Melalui proses pemurnian bakteri diperoleh 46 isolat tunggal yang dilanjutkan dengan analisis morfologi menggunakan pewarnaan gram dan dilakukan uji biokimia, yaitu IMViC, Motilitas, TSIA, Urea, Laktosa, dan Katalase. Berdasarkan analisis yang dilakukan terdapat beberapa bakteri terduga, diantaranya adalah *Cedecea lapagei*, Enteric Group 60, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii* biogroup 1, *Proteus vulgaris*, *Providencia rustigani*, *Serratia odorifera* biogroup 2, *Yersinia rohdei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus piscifermentans*, dan *Staphylococcus auricularis*.

Kata kunci: Saus Tomat, Coliform, *Staphylococcus*, Keamanan Pangan.



PENDAHULUAN

Saus merupakan bahan pelengkap atau penyedap rasa dalam suatu hidangan makanan yang juga sekaligus dapat membuat penampilan makanan semakin menarik. Salah satu jenis saus yang cukup digemari adalah saus tomat dimana saus ini memiliki sekitar 24% padatan terlarut dari tomat alami (Sjarif & Apriani, 2016). Pengolahan saus tomat biasanya diawali dengan sortasi buah tomat, pencucian tomat, blansing, pengupasan kulit tomat, penghancuran daging buah, penyaringan saus, penambahan bahan pengental, penambahan bumbu penyedap rasa, pemberian larutan asam sitrat, pemanasan saus tomat, dan diakhiri dengan pengemasan yang dilakukan dengan keadaan yang steril (Mamuaja & Helvriana, 2017). Berdasarkan proses pengolahan saus tomat, terdapat beberapa proses yang berisiko memicu terjadinya kontaminasi pada produk saus tomat jika proses tersebut tidak dilakukan secara steril. Karena sumber cemaran mikrobial dapat terjadi melalui bahan baku, peralatan yang digunakan, tempat penyimpanan, lokasi penjualan, dan berbagai komponen dalam proses pengolahan hingga proses penyajian (Anversa dkk., 2020). Beberapa jenis mikrobial yang dapat menjadi sumber kontaminannya adalah *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus fructivorans*, *Salmonella* sp., dan beberapa jenis *Enterobacteriaceae* lainnya (Nadifah dkk., 2014; Hossain & Dey, 2019). Pada penelitian yang dilakukan oleh Dwiyantri & Lutpiatina (2016) menunjukkan bahwa presentase mikrobial berdasarkan APM Coliform dan *Staphylococcus aureus* pada saus tomat dari jajanan pentol di sekitar wilayah simpang empat Banjarbaru tidak memenuhi syarat SNI 2009. Sehingga konsumsi saus tomat tersebut dapat menimbulkan gangguan pencernaan seperti diare dan disentri.

METODOLOGI

Pengambilan Sampel

Sampel saus tomat yang diambil berupa saus tomat dalam kemasan yang melalui pengolahan pabrik diambil dari supermarket dengan 5 jenis merek yang berbeda dan dari 5 pedagang bakso tusuk di Kota Yogyakarta. Mewakili 3 kondisi lokasi yang berbeda, yaitu pedagang yang berada di pinggir jalan, di pasar, dan di daerah rumah warga yang penjualannya tidak menetap. Sampel diambil dengan menggunakan botol yang telah disterilkan, lalu dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi UKDW untuk dilakukan analisa secara langsung tanpa jarak waktu.

Resusitasi dan Pengenceran Sampel

Sampel dimasukkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan dengan pepton 5% sebanyak 10 ml. Lalu, diinkubasi dalam *shaker* pada suhu 37°C selama 24 jam (Arini dkk., 2017). Dilakukan pengenceran pada sampel dengan cara sebanyak 1 ml saus tomat dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 9 ml NaCl 0,9%, lalu dihomogenkan, untuk pengenceran seri pertama. Kemudian untuk pengenceran selanjutnya, sampel dari seri pengenceran pertama diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung berisi 9 ml NaCl 0,9%, lalu dihomogenkan. Begitu seterusnya hingga seri pengenceran ke-4 (Sukmawati & Hardianti, 2018).

Isolasi dan Seleksi Bakteri pada Media Selektif

Sampel pengenceran 10^{-2} - 10^{-4} diinokulasi dengan metode spread plate ke dalam medium *Chromocult Coliform Agar* (CCA) dan Baird Parker Agar (BPA) diinkubasi dengan suhu



37°C selama 24-48 jam. Koloni pada CCA yang berwarna biru gelap atau ungu diduga merupakan *Escherichia coli*, koloni berwarna merah merupakan kelompok *Citrobacter*, *Enterobacter*, dan *Klebsiella*, koloni berwarna biru terang merupakan kelompok *Shigella*, *Salmonella*, dan *Yersinia*, sedangkan koloni berwarna putih bening merupakan kelompok bakteri non *Coliform*. Isolat terduga yang diperoleh diinokulasikan ke dalam medium CCA dengan metode streak plate untuk memperoleh koloni tunggal (Atlas & Snyder, 2014). Sedangkan, koloni dari medium BPA yang berwarna abu hingga kehitaman dengan tepi koloni putih dan dikelilingi daerah terang diduga merupakan *Staphylococcus aureus*. Isolat terduga tersebut dikonfirmasi menggunakan media MSA dengan metode streak plate, setelah 20 jam (<24 jam) diamati perubahan medium dimana hasil positifnya berupa perubahan warna merah pada medium menjadi warna kuning (Rahayu, 2014). Isolat terduga yang diperoleh dari CCA dan MSA disimpan dalam media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA).

Uji Biokimia

Uji Indole

Pada uji Indole, isolat yang telah disimpan pada medium BHIA diambil sebanyak satu ose ke dalam *Sulfide Indole Motility (SIM)* Agar, lalu diinkubasi selama 24 jam 37°C. Kemudian, ditambahkan 3-5 tetes pereaksi indole (reagen Kovac's) secara perlahan melalui dinding tabung reaksi dan dihomogenkan. Setelah beberapa menit diamati perubahan pada media. Hasil positif pada uji indole ditandai dengan terbentuknya cincin merah dimana isolat dapat melakukan oksidasi pada triptofan menjadi indole (Ulfa, 2016).

Uji MR-VP (*Methyl Red-Voges Proskauer*)

Pada uji ini diisolasikan 1 ose ke dalam *MR-VP broth* lalu diinkubasi selama 24 jam 37°C. Setelah itu, setiap media dipisahkan menjadi dua untuk dilanjutkan dalam uji MR dan VP. Pada uji MR ditambahkan 3-5 tetes reagen *Methyl Red* dan dihomogenkan. Hasil positif pada uji methyl red ditandai dengan berubahnya larutan menjadi berwarna merah dimana bakteri tersebut dapat memfermentasi monosakarida yang berupa glukosa. Pada uji VP ditambahkan 0,6 ml reagen barrit A (α -*naphthol*) dan 0,2 ml reagen barrit B (KOH 40%) lalu dihomogenkan. Hasil positif pada uji VP ditandai dengan perubahan warna pada media menjadi berwarna merah yang berarti bahwa bakteri memiliki kemampuan dalam menghasilkan produk akhir berupa senyawa non-asam yang bersifat netral. (Saridewi dkk., 2016).

Uji Citrate

Pada uji ini, diisolasikan 1 ose isolat ke dalam Simmons Citrate Agar lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji Citrate dengan hasil positif ditandai dengan terdapat perubahan warna media yang mulanya hijau menjadi biru yang menandakan bahwa bakteri dapat memfermentasi sitrat menjadi sodium karbonat (Saridewi dkk., 2016).

Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

Pada uji TSIA, diisolasikan isolat ke dalam medium TSIA menggunakan ose lurus (inoculating needle) dengan cara menusuk sepertiga dari dasar tabung lalu diangkat serta digores membentuk pola zig-zag pada permukaan agar. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, diamati perubahan warna pada media serta pembentukan gas sebagai hasil uji fermentasi karbohidrat. Perubahan warna media dari warna merah menjadi warna kuning menandakan terjadinya pembentukan asam. Jika isolat dapat memfermentasikan



glukosa, laktosa, dan sukrosa maka bagian *butt* dan *slant*-nya akan berwarna kuning. Hasil uji pembentukan H₂S ditandai dengan terbentuknya endapan warna hitam pada bagian bawah dari media (Kosasi dkk., 2019).

Uji Katalase

Pada uji Katalase, diisolasikan secara aseptik isolat bakteri sebanyak 1 ose ke dalam media nutrient broth lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 5 tetes H₂O₂ ke dalam media. Setelah beberapa menit diamati. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gelembung pada media yang menandakan bahwa bakteri dapat menghasilkan enzim katalase (Kosasi dkk., 2019).

Uji Motilitas

Pada uji motilitas, diisolasikan isolat bakteri menggunakan ose lurus (needle) dengan cara menusuk media *Sulfide Indole Motility* (SIM) Agar lalu diinkubasikan selama 24-48 jam. Hasil uji ini ditandai dengan pola pertumbuhan isolat, jika pertumbuhan menyebar maka bakteri tersebut bersifat motil, dan jika pertumbuhan bakteri lurus sesuai dengan pola inokulasi maka bakteri tersebut bersifat non motil (Putri dkk., 2014).

Uji Fermentasi Laktosa

Pada uji ini, diisolasikan isolat bakteri menggunakan ose *loop* ke dalam media *Phenol Lactose Red* lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Hasil positif pada uji ini ditandai dengan adanya perubahan warna pada media yang semulanya berwarna merah menjadi berwarna kuning. Hal ini menandakan bahwa bakteri dapat memfermentasikan laktosa (Cappucino, 2018).

Uji Fermentasi Glukosa

Pada uji ini, isolat bakteri diinokulasi menggunakan ose *loop* ke dalam media *Phenol Red Glucose Broth* lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Adanya perubahan warna yang mulanya merah menjadi berwarna kuning menandakan hasil positif dan adanya gelembung menandakan bahwa bakteri dapat memfermentasikan glukosa (Cappucino, 2018).

Uji Urea

Pada uji ini, diisolasikan isolat bakteri ke dalam media urea broth dengan menggunakan ose loop lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Hasil positif pada uji ini ditandai dengan perubahan warna pada medium yang mulanya berwarna kuning menjadi warna merah. Hal ini menandakan bahwa bakteri dapat memanfaatkan urea sebagai sumber makanan (Cappucino, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil seleksi bakteri dari medium selektif CCA dan MSA dapat dilihat pada **Tabel 1**. Berdasarkan seleksi bakteri yang dilakukan pada 5 sampel dari supermarket tidak ditemukan koloni bakteri *Coliform* ataupun *Staphylococcus aureus*. Sedangkan, seleksi bakteri pada 5 sampel dari pedagang kaki lima diperoleh 46 total isolat diantaranya terdapat 17 koloni merah gelap (MG), 2 koloni merah pucat (MP), 4 koloni merah dominan putih (MDP), 2 koloni merah terang (MT), 3 koloni biru gelap (BG), 3 koloni putih (P) yang diperoleh dari medium CCA. Adapun, 2 koloni abu zona putih (AP) dan 13 koloni hitam zona bening yang diperoleh dari medium BPA yang kemudian dikonfirmasi menggunakan medium MSA. Sampel saus tomat



sebelum diisolasi ke dalam medium CCA diresusitasi dengan menggunakan pepton 5% dengan tujuan perbaikan sel dalam sampel karena pepton merupakan hasil pemecahan dari protein yang berguna sebagai sumber nitrogen bagi mikroorganisme sehingga dapat menjadi nutrisi pada media pertumbuhan (Arini dkk., 2017).

Tabel 1. Koloni *Coliform* dan *Staphylococcus aureus* yang diperoleh dari sampel PKL

Sampel	Merah Gelap	Merah Pucat	Merah Dominan Putih	Merah Terang	Biru Gelap	Putih	Abu Zona Putih	Hitam Zona Bening
1	CS1.MG1	CS1.MP	CS1.MDP1	-	-	-	MS1.AP1	-
	CS1.MG2		CS1.MDP2					
	CS1.MG3		CS1.MDP3					
	CS1.MG4		CS1.MDP4					
2	CS2.MG1	-	-	-	-	CS2.P	-	-
	CS2.MG2							
	CS2.MG3							
	CS2.MG4							
	CS2.MG5							
3	CS3.MG1	CS3.MP	-	-	-	-	-	MS3.HB1
	CS3.MG2							MS3.HB2
	CS3.MG3							MS3.HB3
								MS3.HB4
4	CS4.MG1	-	-	CS4.MT	-	CS4.P	-	MS3.HB5
	CS4.MG2							MS4.HB1
	CS4.MG3							MS4.HB2
								MS4.HB3
5	CS5.MG1	-	-	CS5.MT	CS5.BG1	CS5.P	-	MS4.HB4
	CS5.MG2				CS5.BG2			MS5.HB1
	CS5.MG3				CS5.BG3			MS5.HB2
					MS5.HB3			
								MS5.HB4

Pada **Tabel 2** dapat dilihat pola distribusi kelompok *Coliform* dan non-*Coliform* serta total koloni yang mencerminkan profil cemaran *Coliform* berdasarkan kenampakan warna koloni yang tumbuh. Koloni berwarna merah terdeteksi di seluruh sampel dan menjadi koloni dengan jumlah tertinggi pertumbuhannya pada setiap sampel. Koloni berwarna biru gelap yang mewakili kelompok bakteri *Escherichia coli* hanya ditemukan pada sampel 5 (S5) saja, sehingga dapat diketahui bahwa tidak semua sampel saus tomat tercemar oleh *E.coli*. Koloni berwarna biru terang hanya ditemukan pada sampel 4 (S4) saja dan pertumbuhan koloni pun cenderung lemah serta diameternya kecil sehingga saat melalui tahap isolasi koloni biru terang ini tidak mampu tumbuh. Sedangkan, koloni berwarna putih ditemukan pada setiap sampel kecuali sampel 3 (S3), namun pertumbuhan koloni putih di sampel 1 (S1) cenderung lemah. Pada **Tabel 3** dapat dilihat pola distribusi kelompok *Staphylococcus* dan total koloni yang tumbuh pada medium BPA berdasarkan warna koloni yang tumbuh. Pada sampel 1 (S1) terdapat koloni berwarna abu dikelilingi dengan zona putih, dan pada sampel 2 hingga 5 (S1-S5) ditemukan koloni berwarna hitam pekat yang dikelilingi dengan zona bening yang dicurigai merupakan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Standar mutu saus tomat berdasarkan SNI (2004), memberikan beberapa syarat khusus seperti keadaan bau, warna, rasa, pengawet, cemaran logam, keasaman, padatan terlarut, serta cemaran mikrobial yang batas maksimalnya 2×10^2 CFU/ml (Usman dkk., 2019). Berdasarkan data yang diperoleh, angka total cemaran *Coliform* di seluruh sampel berkisar antara $1,2 \times 10^5$ - $2,4 \times 10^6$ (CFU/ml). Sedangkan total cemaran enterik patogen pada seluruh sampel berkisar antara $1,3 \times 10^5$ - $2,5 \times 10^6$ (CFU/ml). Hal ini menandakan bahwa sampel saus tomat dari pedagang kaki lima tidak memenuhi standar baku mutu sehingga memungkinkan terjadinya gangguan pencernaan pada konsumen saus tomat. Dengan begitu, perlu dilakukan upaya untuk mencegah adanya pertumbuhan *Coliform* pada saus tomat dengan cara pemanasan, penerapan sanitasi yang baik pada proses pengolahan ataupun penambahan bahan, serta higienitas alat yang digunakan dalam penyimpanan maupun pengolahan (Nadifah dkk., 2014). Upaya pencegahan dengan cara pemanasan juga perlu diperhatikan karena beberapa golongan bakteri tahan terhadap suhu tinggi terutama *E.coli* sehingga perlu dilakukan pemanasan dengan suhu tinggi yaitu diatas 100°C (Sutiknowati, 2016).

Tabel 2. Pertumbuhan Koloni Coliform pada Medium CCA

Sampel	Pengenceran	Warna Koloni	Total Koloni (CFU/ml)		
			Coliform	non-Coliform	Enterik Patogen
S1	10^{-2}	Spr	Spr	Spr	Spr
	10^{-3}	Spr	Spr	Spr	Spr
	10^{-4}	MG: 91, MP: 68, MDP: 27, P: 61	$1,9 \times 10^6$	$6,1 \times 10^5$	$2,5 \times 10^6$
S2	10^{-2}	MG : Spr, P: 21	Spr	$2,1 \times 10^3$	Spr
	10^{-3}	MG: 193, P: 1	$1,9 \times 10^5$	1×10^3	$1,9 \times 10^5$
	10^{-4}	MG: 62, P: 2	$6,2 \times 10^5$	2×10^4	$6,4 \times 10^5$
S3	10^{-2}	Spr	Spr	Spr	Spr
	10^{-3}	Spr	Spr	Spr	Spr
	10^{-4}	MG: 178, MP: 65	$2,4 \times 10^6$	-	$2,4 \times 10^6$
S4	10^{-2}	MG: 108, MT: 48, BT: 121, P: 71	Spr	$7,1 \times 10^3$	Spr
	10^{-3}	MG: 63, MT: 34, BT: 108, P: 12	$2,1 \times 10^5$	$1,2 \times 10^4$	$2,2 \times 10^5$
	10^{-4}	MG: 58, MT: 29, BT: 81, P: 4	$8,8 \times 10^5$	4×10^4	$1,7 \times 10^6$
S5	10^{-2}	MG: Spr, MT: Spr, BG:18, P: 36	Spr	$3,6 \times 10^3$	Spr
	10^{-3}	MG: 106, MT: 16, P: 5	$1,2 \times 10^5$	5×10^3	$1,3 \times 10^5$
	10^{-4}	MG: 12, P:1	$1,2 \times 10^5$	1×10^4	$1,3 \times 10^5$

Keterangan : MG : Merah Gelap, MT : Merah Terang, MP : Merah Pucat, MDP : Merah Dominan Putih, BG : Biru Gelap, P : Putih.

Tabel 3. Pertumbuhan Koloni Staphylococcus pada medium BPA

Sampel	Pengenceran	Warna Koloni	Jumlah Koloni	Total Koloni (CFU/ml)
S1	10^{-2}	AP : Spr	Spr	Spr
	10^{-3}	AP : Spr	Spr	Spr
	10^{-4}	AP : 126	126	$1,3 \times 10^6$
S2	10^{-2}	HB : 142	142	$1,4 \times 10^4$
	10^{-3}	HB : 16	16	$1,6 \times 10^4$
	10^{-4}	HB : 7	7	7×10^4
S3	10^{-2}	HB : 131	131	$1,3 \times 10^4$
	10^{-3}	HB : 22	22	$2,2 \times 10^4$



	10 ⁻⁴	HB : 0	0	0
S4	10 ⁻²	HB : 126	126	1,3 x 10 ⁴
	10 ⁻³	HB : 13	13	1,3 x 10 ⁴
	10 ⁻⁴	HB : 0	0	0
	10 ⁻²	HB : 246	246	2,5 x 10 ⁴
S5	10 ⁻³	HB : 31	31	3,1 x 10 ⁴
	10 ⁻⁴	HB : 3	3	3 x 10 ⁴

Keterangan : AP : Abu Zona Putih, HB : Hitam Zona Bening

Chromocult Coliform Agar merupakan medium selektif untuk mengidentifikasi kelompok bakteri Coliform, dimana medium ini memiliki kandungan substrat kromogenik yaitu X-Glucronide untuk enzim β -Glucuronidase dan Salmon-GAL untuk enzim β -Galactosidase. Identifikasi bakteri dengan medium ini dapat diketahui melalui kenampakan warna koloni yang tumbuh pada medium. Perbedaan warna koloni pada medium CCA disebabkan karena adanya kemampuan metabolik yang berbeda dari kelompok bakteri *Coliform* dalam mendegradasi substrat, dimana koloni bakteri yang berwarna biru gelap pada medium CCA diduga merupakan bakteri *Escherichia coli* karena *E.coli* dapat mendegradasi substrat dengan enzim β -Galactosidase dan β -Glucuronidase. Koloni yang berwarna merah diduga merupakan kelompok bakteri *Citrobacter*, *Enterobacter*, dan *Klebsiella* karena kelompok bakteri ini hanya memproduksi enzim β -Galactosidase sehingga hanya dapat mendegradasi Salmon-GAL saja. Sedangkan, koloni yang berwarna biru terang diduga merupakan kelompok *Salmonella*, *Shigella*, dan *Yersinia* dimana bakteri ini hanya dapat mendegradasi X-Glucronide karena hanya memproduksi enzim β -Glucuronidase. Adapun koloni yang berwarna putih merupakan kelompok *Enterobacteriaceae non-Coliform* dimana bakteri ini tidak memproduksi kedua enzim yang diproduksi oleh bakteri *Coliform* (Amarantini, dkk., 2005). Berdasarkan warna koloni yang tumbuh pada medium CCA dari sampel pedagang kaki lima ditemukan koloni berwarna merah dengan jumlah tertinggi, kemudian disusul oleh biru gelap, dan putih.

Baird Parker Agar merupakan medium selektif untuk mendekteksi kelompok bakteri *Staphylococcus* dimana pada media ini terdapat lithium klorida yang dapat mendorong pertumbuhan *Staphylococcus* dan menghambat bakteri lainnya. Koloni yang tumbuh pada media ini memiliki ciri berwarna abu-abu hingga hitam pekat yang dikelilingi zona terang (opac zone), bundar, licin, dan memiliki diameter 2-3 mm (Ibrahim, dkk., 2017). Berdasarkan koloni yang tumbuh pada medium BPA dari sampel pedagang kaki lima ditemukan koloni berwarna hitam pekat dikelilingi zona bening dengan jumlah tertinggi juga koloni berwarna abu-abu dikelilingi zona opak yang hanya terdapat pada sampel 1 (S1). Koloni yang dicurigai sebagai *Staphylococcus aureus* dikonfirmasi dengan Mannitol Salt Agar yang merupakan medium selektif diferensial dengan kandungan manitol sehingga dapat diketahui bahwa bakteri yang tumbuh pada medium tersebut mampu memfermentasi manitol. Selain itu, medium ini juga mengandung fenol merah yang menjadi indikator terjadinya fermentasi. Koloni yang tumbuh pada medium ini berwarna kuning keemasan dan fermentasi manitol ditandai dengan perubahan warna media yang semula berwarna merah menjadi berwarna kuning.

Isolat tunggal yang diperoleh pada **Tabel 1** diidentifikasi dengan menggunakan uji biokimia yang terdiri dari uji IMViC, Urease, Katalase, TSIA, Motilitas, dan uji gula-gula. Hasil uji

yang diperoleh kemudian dianalisis dan dibandingkan dengan referensi. Berdasarkan hasil uji biokimia teridentifikasi beberapa bakteri terduga yang dapat dilihat pada **Tabel 4** dan **Tabel 5** diantaranya adalah *Cedecea lapagei*, *Enteric Group 60*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii* biogroup 1, *Proteus vulgaris*, *Providencia rustiganii*, *Serratia odorifera* biogroup 2, *Yersinia rohdei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus piscifermentans*, dan *Staphylococcus auricularis*. Dengan begitu menunjukkan bahwa sampel saus tomat dari 5 PKL Bakso Tusuk di Kota Yogyakarta tidak sesuai dengan standar baku mutu. Dengan adanya keberadaan bakteri *Coliform* dan *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan berbagai gejala infeksi, seperti infeksi sistemik akibat keracunan bahan pangan, diare, kram perut, dan infeksi ringan pada kulit (Karimela dkk., 2017 ; Ismaun dkk., 2021).

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia isolat *Coliform* yang berasal dari PKL

Kode Isolat	Ind	MR	VP	Citrates	Fermentasi		Lac	Katalase	Urea	Isolat Terduga
					karbohidrat	(TSIA)				
CS1.MG1	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca (88,89%)
CS1.MG2	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca, ornithine positive (88,89%)
CS1.MG3	+	-	-	+	A/A	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca (88,89%)
CS1.MG4	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca (88,89%)
CS1.MP	+	-	+	-	A/A	+	+	+	-	Enterobacter sakazakii (88,89%)
CS1.MDP1	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca (88,89%)
CS1.MDP2	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca (88,89%)
CS1.MDP3	+	-	+	+	A/A (G)	+	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (88,89%)
CS1.MDP4	+	-	+	+	A/A (G)	+	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (88,89%)
CS2.MG1	+	-	+	+	A/A (G)	+	+	+	-	Klebsiella oxytoca (77,78%)
CS2.MG2	+	-	+	+	A/A	+	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (100%)
CS2.MG3	+	-	+	+	A/A	+	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (100%)
CS2.MG4	+	-	+	+	A/A	+	+	+	-	Cedecea lapagei (88,89%)
CS2.MG5	+	-	+	+	A/A	+	+	+	-	Cedecea lapagei (88,89%)
CS2.P	+	-	-	-	A/K	-	-	-	-	Yersinia rohdei (88,89%)
CS3.MG1	+	-	+	+	A/A (G)	+	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (88,89%) Klebsiella oxytoca (77,78%)
CS3.MG2	+	-	+	+	A/A	-	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (88,89%) Klebsiella oxytoca (88,89%)
CS3.MG3	+	-	+	+	A/A	+	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (100%) Cedecea lapagei (88,89%)
CS3.MP	+	-	+	-	A/A (G)	+	+	+	-	Enterobacter sakazakii (88,89%)
CS4.MG1	+	+	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca



CS4.MG2	+	+	+	+	A/K (G)	-	+	+	-	ornithine positive (88,89%)
CS4.MT	+	-	+	-	A/A (G)	+	+	+	-	Enterobacter sakazakii (88,89%)
CS4.P	+	-	-	-	A/K	+	-	-	-	Yersinia rohdei (77,78%) Enteric Group 60 (77,78%) Dari 9 uji
CS5.MG1	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Serratia odorifera biogroup 2 (77,78%)
CS5.MG2	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Klebsiella oxytoca (77,78%)
CS5.MG3	+	-	+	+	A/A (G)	-	+	+	-	Enterobacter sakazakii (77,78%) Klebsiella oxytoca (77,78%)
CS5.MT	+	-	+	-	A/A (G)	-	+	+	-	Escherichia coli (100%)
CS5.BG1	+	+	-	-	A/A (G)	+	+	-	-	Morganella morganii biogroup 1 (100%) Providencia rustigianii (88,89%) Proteus vulgaris (77,78%)
CS5.BG2	+	+	-	-	A/A (G)	+	+	-	-	
CS5.BG3	+	+	-	-	A/A (G)	+	+	-	-	
CS5.P	+	+	-	-	K/K	-	-	-	+	

Tabel 5. Hasil Uji Biokimia isolat *Staphylococcus aureus* yang berasal dari PKL

Kode Isolat	Acetoin Production	TSIA	Motil	Glu	Lac	Mann	Katalase	Urea	Isolat Terduga
MS1.AP1	-	A/K	-	-	-	+	+	-	<i>Staphylococcus auricularis</i> (75%)
MS1.AP2	-	A/K	-	-	-	+	+	-	<i>Staphylococcus auricularis</i> (75%)
MS3.HB1	-	A/A	+	+	+	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (87,5%)
MS3.HB2	-	A/A	+	+	+	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (87,5%)
MS3.HB3	-	A/A	+	+	-	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (75%)
MS3.HB4	-	A/A	+	+	+	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (87,5%)
MS3.HB5	-	A/A	+	+	+	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (87,5%)
MS4.HB1	-	A/A	+	+	+	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (87,5%)
MS4.HB2	-	A/A	+	+	+	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (87,5%)
MS4.HB3	-	A/A	+	+	-	+	-	-	<i>Staphylococcus</i>



									<i>piscifermentans</i> (75%)
MS4.HB4	-	A/A	+	+	-	+	-	-	<i>Staphylococcus piscifermentans</i> (75%)
MS5.HB1	+	A/A	+	+	+	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i> (87,5%)
MS5.HB2	+	A/A	+	+	+	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i> (87,5%)
MS5.HB3	+	A/A	+	+	+	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i> (87,5%)
MS5.HB4	+	A/A	+	+	+	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i> (87,5%)

Berdasarkan pengamatan, kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Staphylococcus aureus* ini dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah banyak pedagang bakso tusuk yang masih menggunakan tempat saus yang tidak higienis seperti toples yang dibiarkan terbuka sehingga dapat memungkinkan adanya cemaran mikroba pada saus yang digunakan. Bahkan juga terdapat beberapa pedagang bakso tusuk yang mengolah kembali saus tomatnya dengan bahan racikan yang telah dibuatnya menggunakan bahan tambahan seperti penambahan air, pepaya matang, bumbu penyedap, bahan pengental dan bahan-bahan lainnya yang dapat menambah volume saus serta cita rasa yang sesuai (Hilmy dkk., 2019). Dengan begitu, hal ini justru dapat menyebabkan risiko kesehatan bagi pelanggan bakso tusuk tersebut terutama anak-anak karena dengan menambahkan berbagai bahan tersebut dapat memicu pertumbuhan mikroba.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dengan uji biokimia teridentifikasi berbagai jenis bakteri terduga diantaranya adalah *Cedecea lapagei*, *Enteric Group 60*, *Enterobacter sakazakii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii biogroup 1*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rustigani*, *Serratia odorifera biogroup 2*, *Yersinia rohdei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus piscifermentans*, dan *Staphylococcus auricularis* yang dapat menyebabkan berbagai gangguan pencernaan bahkan gejala infeksi ringan pada kulit. Maka dari itu, perlu dilakukan upaya pencegahan dengan menjaga higienitas bahan dan alat.

REFERENSI

- Amarantini, C., Budiarto, T. Y., & Suryanto, R. (2005). Profil Cemaran Bakteri Coliform pada Minuman Susu Segar yang Dijual Pedagang Kaki Lima di Daerah Istimewa Yogyakarta. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 10-16.
- Anversa, L., dkk. (2020). *Microbiological quality and presence of extraneous matter in industrialized tomato sauces. Brazilian Journal of Food Technology Vol. 23, 1-10.*
- Arini, L. D., & Wulandari, R. M. (2017). Kontaminasi Bakteri Coliform Pada Saus Siomai Dari Pedagang Area Kampus Di Surakarta. *Jurnal Biomedika Vol. 10 No. 02, 31-46. (SINTA 3)*
- Atlas, R. M., & Snyder, J. W. (2013). *Handbook of media for clinical and public health microbiology*. CRC Press.
- Cappucino, James G., Welsh, Chad, (2018), *Microbiology A Laboratory Manual*, 11th ed. Global edition, Pearson, Malaysia, pp. 163-227.



- Dwiyanti, R. D., & Lutpiatina, L. (2016). Mutu Bakteriologis Saus Tomat Pentol Di Banjarbaru. *Medical Laboratory Technology Journal Vol. 2 No. 1*, 1-5.
- Hilmy, H. A., Hintono, A., & Nurwantoro, N. (2019). Pengaruh Substitusi Tomat dengan Pepaya terhadap Sifat Kimia dan Kesukaan Saus. *Jurnal Teknologi Pangan*, 3(1), 86-90.
- Hossain, M., & Dey, B. K. (2019). Microbial Contamination of Handmade Sauce Used by Street Food Vendors in Jashore, Bangladesh. *Journal of Food Quality and Hazard Control Vol. 6*, 115-120.
- Ibrahim, J. (2017). *Tingkat Cemaran Bakteri Staphylococcus aureus Pada Daging Ayam Yang Dijual Di Pasar Tradisional Makassar* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar).
- Ismaun, I., Muzuni, Hikmah, N. (2021). Deteksi Molekuler Bakteri Escherichia Coli Sebagai Penyebab Penyakit Diare Dengan Menggunakan Tehnik Pcr. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 6(2), 1-9.
- Karimela, E. J., & Mandeno, J. A. (2019). Tingkat Kontaminasi Mikroba Pada Beberapa Unit Pengolahan Ikan Asap Pinekuhe Di Kabupaten Sangihe. *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan Vol. 10 No. 1*, 61-68.
- Kosasi, C., Lolo, W. A., & Sudewi, S. (2019). Isolasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Dari Bakteri Yang Berasosiasi Dengan Alga Turbinaria Ornata (Turner) J. Agardh Serta Identifikasi Secara Biokimia. *Pharmacon*, 8(2), 351-359.
- Mamuaja, C. F., & Helvriana, L. (2017). Karakteristik Pasta Tomat Dengan Penambahan Asam Sitrat. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan Vol. 5 No. 1*, 17-23.
- Nadifah, F., Bhoga, M. Y., Prasetyaningsih, Y.. (2014). Kontaminasi Bakteri Pada Saus Tomat Mie Ayam di Pasar Condong Catur Sleman Yogyakarta Tahun 2013. *Jurnal Ilmiah Biologi Vol. 2 No. 1*, 30-33. (SINTA 2)
- Putri, M. D., Budiharjo, A., & Kusdiyantini, E. (2014). Isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat, dan analisis proksimat dari pangan fermentasi rusip ikan teri (*Stolephorus sp.*). *Jurnal Akademika Biologi*, 3(2), 11-19.
- Rahayu, N. P., Kawuri, R., & Suriani, N. L. (2014). Uji Keberadaan Staphylococcus Aureus Pada Sosis Tradisional (Urutan) Yang Beredar Di Pasar Tradisional Di Denpasar Bali. *Jurnal Simbiosis Vol. 2 No. 1*, 147-157. (SINTA 4)
- Saridewi, I., Pambudi, A., & Ningrum, Y. F. (2016). Analisis bakteri Escherichia coli pada makanan siap saji di kantin rumah sakit X dan kantin rumah sakit Y. *Bioma*, 12(2), 90-103.
- Sjarif, S. R., & Apriani, S. W. (2016). Pengaruh Bahan Pengental Pada Saus Tomat. *Jurnal Penelitian Teknologi Industri Vol. 8 No. 2*, 141-150.
- Sukmawati, & Hardianti, F. (2018). Analisis Total Plate Count (TPC) Mikroba Pada Ikan Asin Kakap Di Kota Sorong Papua Barat. *Jurnal Biodjati Vol. 3 No. 1*, 72-78. (SINTA 2)
- Sutiknowati, L. I. (2016). Bioindikator Pencemar, Bakteri Escherichia coli. *Jurnal Oseana Vol. XLI No. 4*, 43-71.
- Ulfa, A., Suarsini, E., & al Muhdhar, M. H. I. (2016). Isolasi dan uji sensitivitas merkuri pada bakteri dari limbah penambangan emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian Pendahuluan. In *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning* (Vol. 13, No. 1, pp. 793-799).
- Usman, N. B., dkk. (2019). Mutu Saus Dengan Bahan Dasar Tomat, Wortel Dan Minyak Sawit Merah. *Jurnal Teknologi Pangan*, 1-11.