

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Susu

Susu adalah cairan berwarna putih-kekuningan yang keluar dari ambing ternak mamalia yang kaya akan nutrisi. Hampir semua zat yang dibutuhkan oleh tubuh ada didalam susu. Selain tersedia dalam bentuk olahan, susu juga dapat di konsumsi segar (Suwito 2010; Pandey & Voskuil 2011). Susu segar merupakan cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih, diperoleh dengan cara pemerahan yang benar, kandungan alaminya tidak dikurangi atau tidak ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun kecuali pendinginan (Standar Nasional Indonesia 2011).

Melindungi masyarakat dari adanya cemaran bakteri patogenik pada susu yang dapat mengakibatkan gangguan kesehatan, maka pemerintah telah mengeluarkan rujukan berupa Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 01-3141-1998 tentang Syarat Mutu Susu segar dan SNI No. 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. Disyaratkan bahwa cemaran bakteri/ mikroba maksimum untuk total bakteri *S. aureus* 1×10^2 /ml. Pengujian cemaran bakteri dalam susu segar adalah sebagai parameter sanitasi dalam proses produksi atau penanganan susu dan sebagai parameter kesehatan serta keamanan susu.

Menurut Chye *et al* (2004), susu yang baru dikeluarkan dari ambing sapi yang sehat biasanya mengandung jumlah mikroorganisme yang rendah ≤ 1000 per ml, namun jumlahnya dapat meningkat mencapai 100 kali lipat atau lebih pada

saat disimpan lama pada suhu kamar (25°C). Mikroorganisme patogen penyebab *foodborne diseases* yang terkait dengan konsumsi susu antara lain *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp, *Campylobacter* sp, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* dan *Clostridium botulinum*.

2.2. *Staphylococcus aureus*

2.2.1. Klasifikasi

Menurut Vos. P *et al.* (2009), klasifikasi *S. aureus* adalah sebagai berikut:

Phylum : *Firmicutes*
Kingdom : *Bacteria*
Ordo : *Eubacteriales*
Family : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus aureus*

2.2.2. Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri *coccus* bergerombol, Gram positif, koloni berwarna kuning keemasan, dan bersifat β hemolisa pada media BAP (*Blood Agar Plate*) atau agar darah. Beberapa diantaranya tergolong flora normal pada kulit dan selaput mukosa manusia, menyebabkan penanahan, abses dan berbagai infeksi dan bahkan bahan septikimia fatal. Bakteri *S. aureus* mempunyai polisakarida dan protein yang berfungsi sebagai antigen dan merupakan substansi penting didalam struktur dinding sel, tidak membentuk spora, dan tidak mempunyai flagel (Jawetz 2005).

2.2.3. Sifat Biakan

Bakteri *S. aureus* mudah tumbuh pada perbenihan bakteriologik dalam keadaan aerobik dan mikroaerobik. Bakteri *S. aureus* paling cepat tumbuh pada suhu 37°C tetapi paling baik pada suhu kamar (20°C-25°C). Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus, cembung, berkilau-kilau dan membentuk pigmen. Koloni berwarna putih sampai kuning emas tua. Bakteri *S. aureus* mempunyai berbagai macam tingkatan hemolisa yang dihasilkannya (Jawetz 2005).

Pada media *Nutrient Agar* (NA) setelah diinkubasi selama 24 jam koloninya berpigmen kuning emas berukuran 20µm, cembung, berkilau, dan tepinya rata. Pada media *Blood Agar Plate* (BAP) daerah disekitar koloni terlihat zona beta hemolisa (zona jernih) yang lebar. Pada media *Manitol Salt Agar* (MSA) koloni berwarna kuning karena terjadi fermentasi manitol menjadi asam, dengan indikator phenol red warna media semula berwarna merah berubah menjadi kuning (Tambayong 2009).

Uji katalase pada *S. aureus* positif. Uji katalase digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri yang diuji. Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase yang dapat memecah H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂. Uji novobiosin pada *S. aureus* sensitif. Uji koagulase positif ditandai dengan adanya butiran pasir, terjadi koagulase plasma yang mengandung protein yang digumpalkan oleh enzim koagulase dalam bakteri (Hapsari 2010).

2.3. Gen *Coa* penyandi enzim koagulase *S. aureus*

Uji koagulase digunakan untuk mengidentifikasi bakteri yang memiliki enzim koagulase yang ditandai dengan penggumpalan plasma oksalat. Bakteri *S. aureus* adalah salah satu bakteri yang menghasilkan enzim koagulase. Enzim koagulase juga merupakan faktor virulensi yang berperan penting dalam diagnosis *S. aureus*. Bakteri yang membentuk koagulase dianggap mempunyai potensi menjadi patogen invasif (Carter & Darla 2004).

Enzim koagulase berikatan dengan protombin yang terdapat dalam plasma, keduanya menjadi aktif secara enzimatik dan mengubah fibrinogen menjadi fibrin. Hasil akhir kerja enzim koagulase adalah koagulasi plasma yang membentuk gumpalan fibrin. (Wheller 1990 & Jawetz *et al.* 2008)

Bakteri *S. aureus* menghasilkan koagulase yang bekerja sama dengan faktor serum untuk koagulasi plasma. Koagulase berperan pada pembentukan dinding fibrin disekeliling lesi *Staphylococcus*, yang membantu untuk bertahan dalam jaringan. Koagulase juga menyebabkan deposisi fibrin pada permukaan *Staphylococcus* yang memungkinkan melindungi bakteri dari fagositosis atau pengrusakan dalam sel fagosit (Jawetz *et al.* 2001).

Gen *Coa* adalah suatu gen penyandi enzim koagulase dan penanda adanya bakteri *S. aureus*. Uji koagulase dianggap sebagai metode yang sederhana dan efektif untuk mengetahui isolat *S. aureus* dari manusia dan susu sapi mastitis (De silva 2005 & Goh 1992).

Amplifikasi gen *Coa* telah dianggap sebagai metode sederhana dan akurat untuk penanda isolat *S. aureus* yang berbeda, koagulase merupakan faktor virulensi yang penting sebagai penanda *S. aureus*.

Menurut Feizabadi *et al.* (2011) gel elektroforesis adalah metode standar untuk menentukan gen bakteri dengan menggunakan PCR untuk amplifikasi gen *Coa*, teknik ini lebih baik untuk eksperimen karena biaya yang lebih murah, tidak perlu ahli, lebih cepat kompetensi dan berkemampuan tinggi.

2.3.1. Patogenitas Enzim Koagulase *S. aureus*

Bakteri *S. aureus* yang patogenik dan bersifat invasif menghasilkan koagulase dan cenderung untuk menghasilkan pigmen kuning bersifat hemolitik dan meragikan manitol. Infeksi lokal *S. aureus* adalah suatu infeksi folikel rambut, abses, infeksi peradangan yang hebat, terlokalisir, sakit, yang mengalami pernanahan sentral dan dapat sembuh dengan cepat apabila nanah dikeluarkan (Hapsari 2010 & Jawetz 2005).

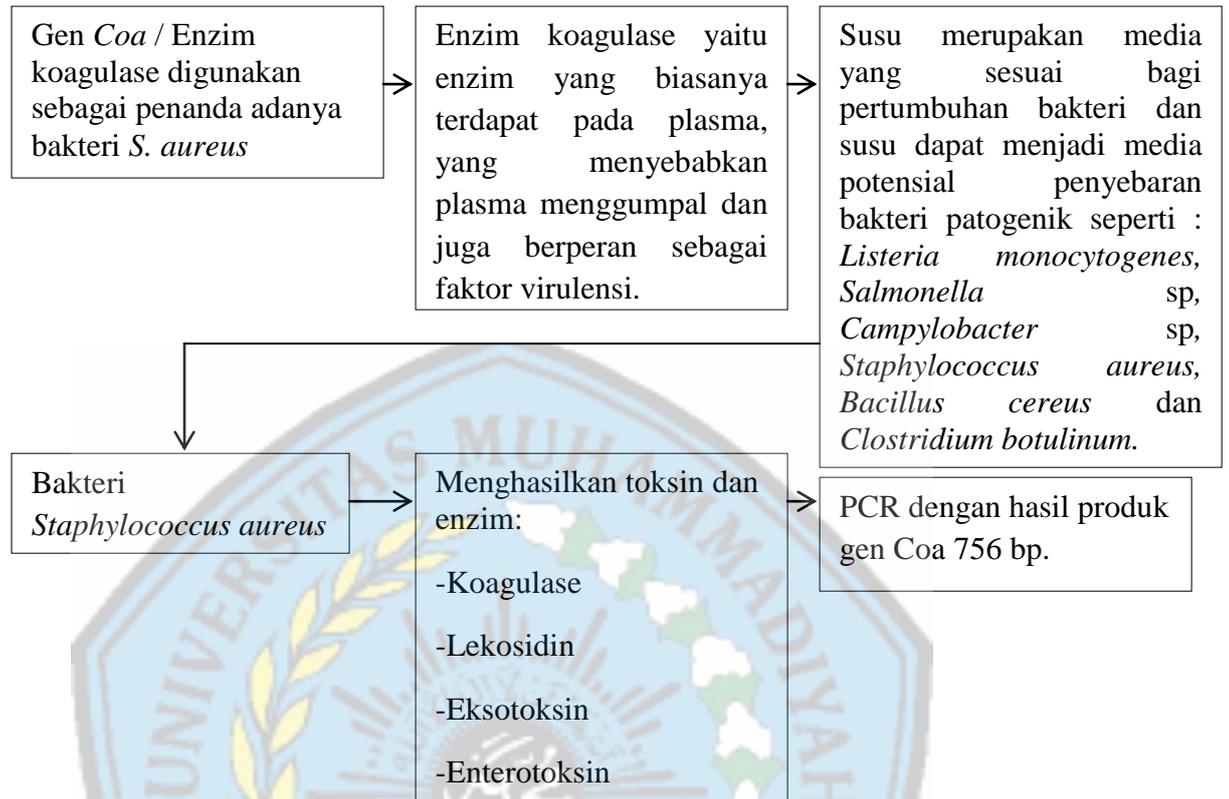
2.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)

Polymerase Chain reaction (PCR) adalah salah metode enzimatik untuk replikasi DNA dengan cara *in vitro* (Madigna 2012). Amplifikasi DNA dengan PCR dapat dilakukan bila menggunakan primer oligonukleotida yang disebut amplimers. Primer merupakan molekul DNA rantai tunggal sintetik yang pendek, primer ini komplemen dengan ujung DNA target, primer digunakan agar memulai sintesis DNA (Willey 2009).

Menurut Yusuf (2010), metode PCR menggunakan tiga tahap penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu :

- a. Tahap denaturasi, DNA untai ganda akan membuka menjadi dua untai tunggal. Hal ini disebabkan karena denaturasi biasanya dilakukan antara suhu 90°C - 95°C , suhu denaturasi yang tinggi menyebabkan putusny ikatan hidrogen diantara basa-basa yang komplemen.
- b. Tahap annealing (penempelan primer), primer akan menuju daerah spesifik yang komplemen dengan urutan primer, pada proses annealing ini, ikatan hidrogen akan terbentuk antara primer dengan urutan koplemen pada templat.
- c. Tahap reaksi polimerisasi, umumnya reaksi polimerisasi atau perpanjangan primer ini, terjadi pada suhu 72°C . Primer yang telah menempel tadi akan mengalami perpanjangan pada sisi 3'nya dengan penambahan dNTP yang komplemen dengan template oleh DNA polimerase.

2.5. Kerangka Teori



2.6. Kerangka Konsep

