

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian Tahap I

1. Isolasi Bakteri pada Susu Sapi Segar dan Pasteurisasi

Isolasi merupakan kegiatan memisahkan bakteri dari sampel atau dari medium lama dan menumbuhkannya pada media yang baru sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Segala perlakuan dalam menumbuhkan bakteri harus dilakukan secara aseptis untuk menghindari adanya kontaminasi. Peneliti melakukan pengujian terhadap adanya bakteri patogen diantaranya *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella* yang terdapat pada susu sapi segar dan pasteurisasi.

Isolasi bakteri pada susu sapi segar dan pasteurisasi menggunakan media *Lactose Broth*, *Brilliant Green Lactose Broth*, dan juga menggunakan media selektif berupa media *Eosin Methylene Blue Agar*, *Mannitol Salt Agar*, dan *Salmonella Shigella Agar*. Media LB adalah media yang digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri. Begitu juga dengan media BGLB yang memiliki fungsi hampir sama, yaitu untuk mendeteksi bakteri koliform maupun lainnya. Sedangkan media EMBA adalah media selektif dari bakteri *Escherichia coli*, MSA adalah media selektif dari bakteri *Staphylococcus aureus*, dan SSA adalah media selektif dari bakteri *Salmonella*.

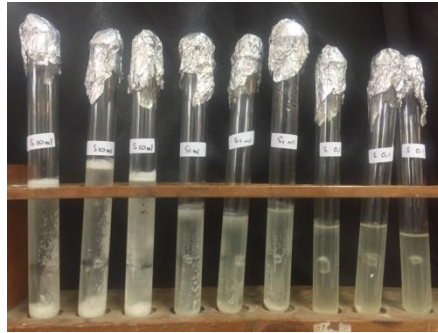
Media selektif bisa diartikan sebagai media dengan penambahan zat penghambat atau senyawa tertentu, sehingga dapat digunakan untuk membedakan golongan mikroorganisme.¹

Langkah awal untuk melakukan isolasi bakteri adalah dengan pengenceran terhadap masing-masing sampel yaitu susu sapi segar dan pasteurisasi. Proses pengenceran bertujuan untuk mengurangi kepadatan jumlah koloni yang tumbuh pada media isolasi. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 10 ml sampel dan akuades 90 ml, kemudian dihomogenkan dalam botol sampel. Pengenceran ini ditandai menggunakan kertas label dengan tanda pengenceran 10^{-1} . Dari pengenceran 10^{-1} , diambil sebanyak 1 ml pengenceran dihomogenkan dengan akuades 9 ml. Kemudian ditandai menggunakan kertas label dengan tanda pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilakukan hingga mendapatkan hasil pengenceran 10^{-3} .

Pemeriksaan adanya bakteri dalam air susu dilakukan dengan menggunakan media LB yang ditaruh dalam tabung reaksi dan diberikan tabung durham dengan posisi terbalik (bertujuan untuk menangkap gas hasil fermentasi laktosa menjadi asam dan gas). Dalam penelitian ini menggunakan seri tabung 3-3-3 (3 tabung untuk 10 ml sampel, 3 tabung untuk 1 ml sampel, dan 3 tabung untuk 0,1 sampel).

Pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} ditanamkan pada media LB dan diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C , kemudian dilakukan pengamatan. Hasil positif dari media LB dapat dilihat pada Gambar 4.1.

¹ Agnes Sri Hartati, *Mikrobiologi Kesehatan; Peran Mikrobiologi dala Bidang Kesehatan*, (Yogyakarta: Andi Offset, 2015), hal. 121



(a) sampel susu sapi segar



(b) sampel susu pasteurisasi

Gambar 4.1 Hasil Positif pada Media LB (Sumber : dok.pribadi)

Dari hasil positif dilakukan penanaman kembali, tetapi pada medium yang berbeda. Medium yang digunakan yaitu BGLB. Jadi masing-masing tabung diambil sebanyak 1 ml kemudian ditanam pada media tersebut, lalu diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C dan dilakukan pengamatan. Hasil positif dari media BGLB dapat dilihat pada Gambar 4.2.



(a) sampel susu sapi segar



(b) sampel susu pasteurisasi

Gambar 4.2 Hasil Positif pada Media BGLB (Sumber : dok.pribadi)

Gas yang timbul akibat adanya perombakan (fermentasi dan respirasi) oleh bakteri berupa hidrogen (H_2), karbondioksida (CO_2), metan (CH_4), nitrogen (N_2), hidrogen sulfida (H_2S), dan amoniak (NH_3). Namun kebanyakan gas yang timbul akibat dari aktivitas mikroba berupa CO_2 . Gas ini menunjukkan sebagai hasil dari pernafasan aerob dan anaerob. Jika karbondioksida yang timbul hanya sedikit, kemungkinan gas itu larut dalam cairan medium atau mungkin juga meninggalkan medium itu dengan jalan difusi. Jika karbondioksida banyak maka hal ini ditunjukkan dengan buih yang timbul pada medium. Begitu pula dengan hidrogen, gas ini timbul bersamaan dengan karbondioksida sebagai hasil penguraian karbohidrat.²

Dari hasil positif BGLB nantinya akan dilakukan *streak* atau penggoresan di media selektif yaitu EMBA, MSA, dan SSA. Tetapi pada penelitian ini tidak dilakukan *streak* di media selektif dikarenakan keterbatasan biaya dan waktu. Selain itu cara yang kedua telah berhasil menumbuhkan bakteri yang diinginkan. Jadi, cara ini dilakukan untuk mengetahui adanya bakteri golongan koliform yaitu *E.coli* dan *Staphylococcus aureusi* yang biasanya dijadikan sebagai indikator terjadinya pencemaran terhadap air. Bakteri golongan koliform juga merupakan salah satu flora normal pada usus manusia.

Makanan yang kurang terjamin kebersihannya akan sangat mudah terkontaminasi. Kontaminasi juga dapat terjadi jika penyimpanan makanan terlalu lama. Penyimpanan yang lama akan menyebabkan

² Dwidjoseputro, *Dasar-dasar Mikrobiologi...*, hal. 82

tumbuhnya bakteri patogen seperti *coliform*. Bakteri *coliform* merupakan mikroorganisme yang sering digunakan sebagai indikator untuk menentukan suatu sumber air terkontaminasi patogen atau tidak. Bakteri *coliform* dapat tumbuh dan berkembang biak pada suhu penyimpanan 7°C hingga 60°C.³ Penyebab keracunan makanan adalah adanya cemaran bakteri patogen. Terjadinya keracunan ditandai dengan adanya gejala diare. Jika diare terjadi dalam jangka yang panjang akan dapat menyebabkan kematian. Kasus keracunan terjadi karena penerapan sanitasi lingkungan pengolahan yang masih kurang memadai. Cemaran yang dapat menyebabkan penyakit adalah cemaran mikrobiologi seperti *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* atau bakteri *coliform*.

Selain dengan media LB dan BGLB, peneliti juga melakukan cara lain untuk mencari adanya bakteri patogen yang membutuhkan waktu lebih singkat yaitu dengan melakukan isolasi bakteri langsung di media selektifnya.

Ada beberapa metode yang bisa digunakan dalam mengisolasi bakteri diantaranya metode goresan/*streak plate* yaitu dengan menggoreskan sejumlah suspensi sampel ke permukaan media agar lempeng menggunakan ose bulat; metode tuang/*pour plate* yaitu dengan menuang sejumlah suspensi sampel pada media yang masih dalam keadaan cair, kemudian menghomogenkan sampai rata lalu dibiarkan hingga padat; dan metode perataan/*spread plate* yaitu dengan mengambil

³ Aprilia Mustikaning Putri dan Pramudya Kurnia, "Identifikasi Keberadaan Bakteri Coliform dan Total Mikroba dalam Es Dung-dung di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta," dalam *Media Gizi Indonesia* 13, no. 1 (2018): 42

sejumlah suspensi sampel, lalu dituangkan di atas media agar lempeng dan diratakan menggunakan *spatel drygalski*.⁴

Dalam penelitian ini menggunakan metode *pour plate* dalam isolasi bakteri. Untuk melakukan isolasi, sejumlah sampel hasil pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} diambil dan diletakkan pada cawan petri untuk dihomogenkan dengan media selektif. Menghomogenkan suspensi dengan cara menggoyangkan cawan hingga tercampur sempurna. Setelah tercampur biarkan sampai suspensi memadat dan inkubasi selama 2x24 jam untuk bisa dilakukan pengamatan.

Hasil isolasi pada media EMBA menunjukkan bahwa sampel susu sapi segar positif adanya bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 4.3. Hal ini kemungkinan terjadi karena pemilik kurang menjaga kebersihannya ketika melakukan pemerahan. Bakteri bisa menyebar melalui tangan pemerah dan juga tempat yang digunakan untuk menyimpan susu. Rendahnya pengetahuan dan kesadaran akan kebersihan menyebabkan susu terkontaminasi oleh bakteri tersebut.



Gambar 4.3 Isolat Bakteri *E.coli* pada Susu Sapi Segar (Sumber : dok.pribadi)

⁴ Hartati, *Mikrobiologi Kesehatan...*, hal. 125

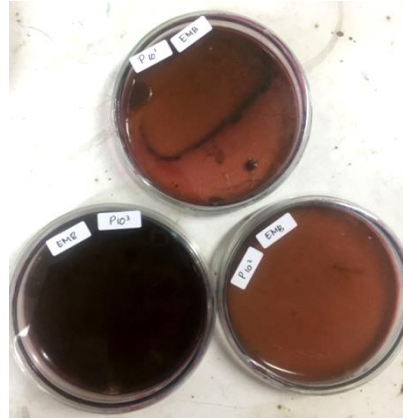
Susu mentah mengandung berbagai jenis mikroorganisme yang berasal dari berbagai sumber. Pertumbuhan bakteri koliform yang mempunyai enzim laktosa menghasilkan asam laktat, asetat, format, CO₂, dan H₂ yang menyebabkan gumpalan, busa, serta susu asam. Beberapa bakteri dan koliform juga dapat menyebabkan susu berlendir, karena viskositas eksopolisakarida. Populasi bakteri pada susu mentah yang tidak disimpan pada suhu refrigerasi akan didominasi oleh pertumbuhan bakteri mesofilik. Mikroorganisme lain juga dapat tumbuh dan melakukan proteolisis, lipolisis, dan membentuk gas.⁵

Susu sapi segar yang terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan penyakit khususnya pada saluran pencernaan. Pada usus besar terdapat bakteri *Escherichia coli* yang dapat bersifat patogen apabila ditemukan dalam jumlah besar. Hal ini mengakibatkan diare bahkan muntaber pada anak-anak. Cara yang baik untuk mencegah adanya akumulasi bakteri salah satunya dengan rajin membersihkan dan mengeringkan tempat penyimpanan atau tangki air yang digunakan untuk menampung susu, juga membersihkan puting sapi serta tangan sebelum melakukan pemerahan.

Sedangkan sampel susu pasteurisasi negatif adanya bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 4.4. Media EMBA yang telah diinkubasi selama 2x24 jam tidak ditumbuhi oleh koloni bakteri. Hal ini kemungkinan terjadi karena bakteri telah hancur ketika dilakukannya pemanasan. Pasteurisasi baik dilakukan ketika hendak mengkonsumsi

⁵ Sopandi dan Wardah, *Mikrobiologi Pangan...*, hal. 361

susu, karena dengan perlakuan tersebut akan meminimalisir terjadinya penyakit yang diakibatkan oleh bakteri.



Gambar 4.4 Susu Pasteurisasi Negatif Bakteri *Escherichia coli* (Sumber : dok.pribadi)

Susu pasteurisasi adalah produk susu yang diperoleh dari susu segar yang dipanaskan untuk mengurangi mikroorganisme patogenik pada susu. Proses pasteurisasi dilakukan dengan metode *High Temperature Short Time* (HTST) atau metode holding dan dikemas segera dalam kemasan steril secara aseptis.⁶

Pasteurisasi panas pada susu perlu dilakukan untuk mencegah pertumbuhan bakteri penyebab penyakit dan mencegah terjadinya kerusakan akibat mikroorganisme dan enzim. Pasteurisasi dilakukan untuk memberikan perlindungan maksimum terhadap penyakit bawaan dari susu, dengan mengurangi seminim mungkin zat gizinya, serta mempertahankan semaksimal mungkin cita rasa susu segar. Apabila

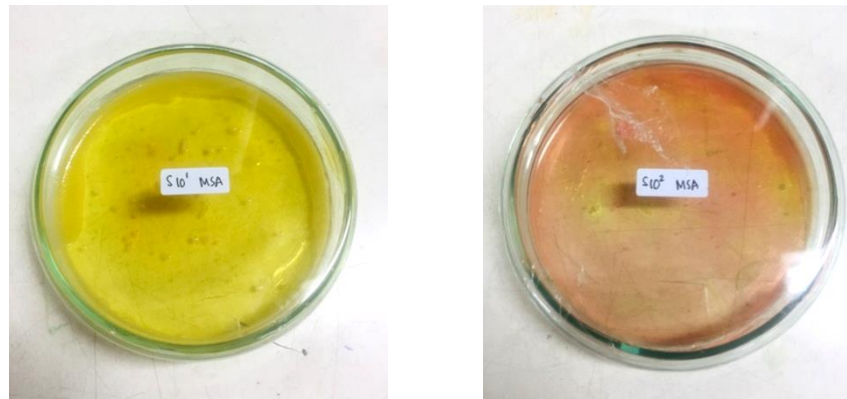
⁶ Prastiwi dan Setiyawan, *Perilaku Konsumsi...*, hal. 42

pasteurisasi dilakukan dengan benar maka dapat menghancurkan semua organisme patogen.

Faktor yang paling penting dalam pencegahan *E.coli* pada manusia adalah mencegah kontaminasi pangan dengan air secara langsung maupun tidak langsung oleh tinja. Hal ini dapat dilakukan dengan cara mengembangkan sanitasi yang efektif dalam persediaan air dan pengolahan pangan. Metode deteksi *E.coli* yang digunakan melibatkan pengayaan sampel selektif, isolasi patogen pada media agar selektif, dan karakterisasi biokimia.⁷

Hasil isolasi pada media MSA menunjukkan bahwa sampel susu sapi segar positif adanya bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.5. Susu yang tercemar oleh bakteri ini sangat berbahaya karena dapat mengakibatkan berbagai penyakit salah satunya adalah *gastroenteritis* atau infeksi pada dinding saluran pencernaan yang dapat mengakibatkan diare. Koloni bakteri yang tumbuh pada media selektif ini akan mengubah warna media menjadi kuning, atau terdapat koloni pada media berwarna kuning.

⁷ Sopandi dan Wardah, *Mikrobiologi Pangan...*, hal. 428

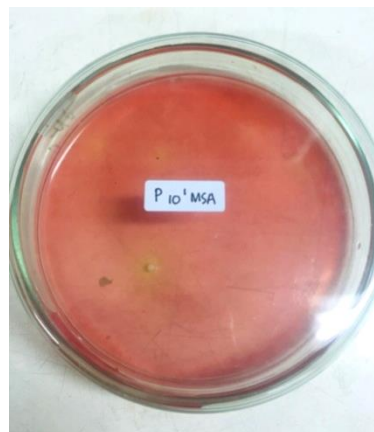


(a) susu sapi segar pengenceran 10^{-1}

(b) susu sapi segar pengenceran 10^{-2}

Gambar 4.5 Isolat Bakteri *S.aureus* pada Susu Sapi Segar (Sumber : dok.pribadi)

Sedangkan sampel susu pasteurisasi yang diteliti juga positif adanya bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.6. Pasteurisasi susu seharusnya dapat menghilangkan bakteri yang bersifat patogen. Tetapi, pada susu pasteurisasi yang diteliti terdapat bakteri *S.aureus*.



Gambar 4.6 Isolat Bakteri *S.aureus* pada Susu Pasteurisasi (Sumber : dok.pribadi)

Dalam susu segar dan produk pangan *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan *toxic shock syndrome* akibat keracunan pangan. *Staphylococcal enterotoxin* merupakan agen yang menyebabkan sindrom keracunan dalam makanan pada manusia maupun hewan.⁸ Namun akhir-akhir tahun ini angka kejadian akibat keracunan stafilokokal telah menurun sebagai refleksi dari penggunaan suhu penyimpanan pangan yang baik, dan pengembangan praktik sanitasi yang dapat mengendalikan kontaminasi dan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus*. Enterotoksin yang dihasilkan oleh strain *S.aureus* secara umum berkaitan dengan keracunan pangan, keterlibatannya yang berbeda dalam intoksikasi ini belum diketahui. Bakteri ini menginfeksi kulit yang bengkak atau luka.⁹

Senyawa beracun yang diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* disebut enterotoksin dan dapat terbentuk dalam makanan karena pertumbuhan bakteri tersebut. Disebut enterotoksin karena menyebabkan *gastroenteritis*. Sumber penularan *S.aureus* adalah manusia atau hewan melalui hidung, tenggorokan, kulit, dan luka yang bernanah. Gejala keracunan yang terjadi adalah banyak mengeluarkan ludah, mual, muntah, kejang perut, diare, sakit kepala, berkeringat dingin yang terjadi hanya satu atau dua hari. sesudah itu penderita akan sembuh. Biasanya jarang terjadikematian.¹⁰

Beberapa bakteri memang dapat bertahan hidup saat proses pasteurisasi, sehingga bakteri dapat ditemukan pada susu yang telah

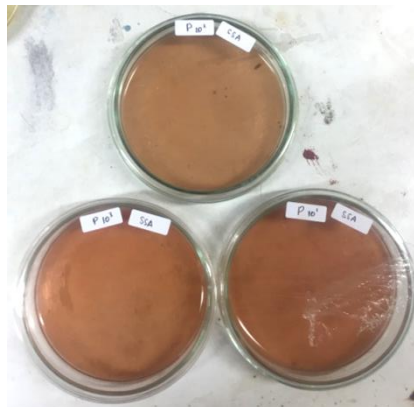
⁸ Dewi, *Isolasi, Identifikasi...*, hal. 140

⁹ Sopandi dan Wardah, *Mikrobiologi Pangan...*, hal. 390

¹⁰ F.G. Winarno, *Kimia Pangan dan Gizi*, (Jakarta: Gramedia Pustaka Utama, 2002), hal.

dipasteurisasi. Selain itu beberapa bakteri koliform dan beberapa jenis bakteri lainnya dapat masuk sebagai kontaminasi setelah pasteurisasi. Susu pasteurisasi yang disimpan dalam suhu refrigerasi atau suhu di bawah ruangan (di bawah 20°C) mempunyai masa simpan yang terbatas, karena pertumbuhan bakteri kontaminan psikrofilik. Pertumbuhan bakteri tersebut diketahui terlibat dalam proses kerusakan susu pasteurisasi yang disimpan pada suhu refrigerasi khususnya pada tingkat kontaminan pascapasteurisasi yang rendah. Spora bakteri psikofilik mampu bertahan hidup pada suhu pasteurisasi, bergerminasi, dan melakukan pertumbuhan dan menyebabkan kerusakan.¹¹

Pengujian terakhir yaitu isolasi pada media SSA yang menunjukkan bahwa sampel susu sapi segar dan pasteurisasi tidak ditemukan adanya bakteri *Salmonella*. Hasil isolasi pada media SSA dapat dilihat pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Susu Sapi Segar dan Pasteurisasi Negatif Bakteri *Salmonella*
(Sumber : dok.pribadi)

¹¹ Sopandi dan Wardah, *Mikrobiologi Pangan...*, hal. 362

Kerusakan mikrobiologik disebabkan oleh pertumbuhan mikroba dari pencemaran sebelum produk diproses atau dari pencemaran mikroba selama penanganan produk, dan terjadi apabila ada kesempatan suhu produk meningkat sampai melewati titik bekunya.¹² Mempertahankan kualitas susu segar dapat dilakukan dengan cara pendinginan atau pemanasan. Jika ingin mengonsumsi susu segar alangkah baiknya segera dimasak dengan cara memanaskan susu menggunakan api kecil sambil terus diaduk hingga mendidih. Dengan cara ini dipastikan bakteri akan mati sehingga susu aman untuk dikonsumsi. Apabila tidak segera dimasak, susu bisa disimpan di dalam lemari pendingin. Hal ini bertujuan untuk menghambat aktivitas bakteri, tetapi masa penyimpanan tidak boleh lebih dari 7 hari. Jika melebihi batas penyimpanan maka susu tersebut sudah tidak layak konsumsi.

Produk pangan disimpan dingin bertujuan untuk mengawetkan dan sekaligus menunda penggunaan produknya sampai waktu yang digunakan untuk berbagai keperluan. Produk pangan yang disimpan ialah produk yang mudah rusak pada suhu ruangan, terutama bahan pangan segar seperti sayur, buah, susu, dan telur. Namun selama penyimpanan pun dapat terjadi perubahan kondisi produk atau bahkan terdapat kerusakan berupa kerusakan fisik, kimiawi, dan biologik. Berbagai kerusakan pada bahan pangan itu berujung akan terjadi kerusakan pada mikrobiologik. Kerusakan mikrobiologik yang sangat kritikal pada penyimpanan dingin yaitu oleh mikroba psikrofilik yang dapat tumbuh

¹² Soewarno T. Soekarno dan Weli Yuliatmoko, *Teknik Penyimpanan dan Penggundangan Produk Pangan*, (Malang: Intimedia, 2018), hal: 134

pada suhu yang sangat rendah sekitar 4°C. Mikroba psikrofilik golongan bakteri yaitu: *Pseudomonas*, *Akromobacter*, *Flavobacaterium*, *Micrococcus*. Jenis mikroba inilah yang dapat merusak produk pangan yang telah dipasteurisasi dan disimpan dingin.¹³

Untuk mengetahui bagaimana bentuk bakteri patogen yang terdapat pada susu, maka dapat dilakukan suatu pengamatan. Pengamatan bakteri dilakukan dengan cara mengamati morfologi koloni bakteri. Bakteri yang telah tumbuh pada media lempeng diamati satu-persatu. Warna dan bentuk dari masing-masing koloni berbeda dan hal tersebut merupakan ciri khas bagi spesies tertentu. Besar kecilnya koloni, mengkilat tidaknya, halus kasarnya permukaan, dan warna koloni merupakan sifat-sifat yang diperlukan dalam menentukan identifikasi suatu spesies. Warna bakteri baru tampak jelas ketika berada dalam satu koloni. Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Morfologi Koloni Bakteri

Ciri	Bakteri	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Warna	Hijau	Kuning
Bentuk	Bundar	Bundar
Tepi	Licin	Licin
Elevasi	Cembung	Cembung
Mengkilat/suram	Mengkilat	Suram

Bakteri *Escherichia coli* memiliki koloni berwarna hijau. Dari hasil isolasi yang dilakukan mendapatkan koloni bakteri yang bermacam-macam, salah satu bentuknya yaitu bulat atau bundar dengan tepian licin,

¹³ *Ibid.*, hal. 86-87

elevasi cembung, dan warna mengkilat. Sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan ciri-ciri koloni berwarna kuning, berbentuk bulat atau bundar, tepian licin, elevasi cembung, dan warna suram.

Kebanyakan bakteri memiliki warna keputih-putihan, keabuan, kekuningan atau hampir bening, akan tetapi ada juga beberapa spesies yang memiliki pigmen warna yang lebih tegas. Adanya warna itu dipengaruhi oleh faktor luar seperti temperatur, pH, dan oksigen. Ada beberapa spesies yang memerlukan fosfat, ada juga yang memerlukan sulfat guna menimbulkan pigmentasi. Pada umumnya, pigmen menetap di dalam sel selama bakteri itu hidup, pigmen hijau dapat larut dalam air serta meresap ke dalam medium yang ditumbuhinya setelah sel mati. Apa fungsi pigmen itu bagi bakteri belumlah kita ketahui dengan jelas. Adakalanya koloni bakteri yang berpigmen menghasilkan keturunan yang tidak berwarna, hal ini mungkin dapat dikatakan sebagai mutasi.¹⁴

Dari masing-masing bakteri yang telah teridentifikasi kemudian diinokulasikan pada media agar miring untuk mendapatkan stok kultur bakteri. Metode yang digunakan untuk melakukan kultur bakteri dengan metode gores yaitu mengambil bakteri yang tumbuh pada media selektif dengan ose bulat, kemudian membiakkannya kembali dengan cara menggoreskan ose ke media agar miring. Setelah diinkubasi selama 24 jam maka stok kultur bakteri telah siap. Fungsi dari kultur sendiri ialah untuk memperoleh isolate dari sampel atau biakan campuran, mengetahui

¹⁴ *Ibid.*, hal. 34

sifat fisiologis mikroorganismenya, serta memperbanyak mikroorganismenya dan perhitungan jumlah mikroorganismenya.

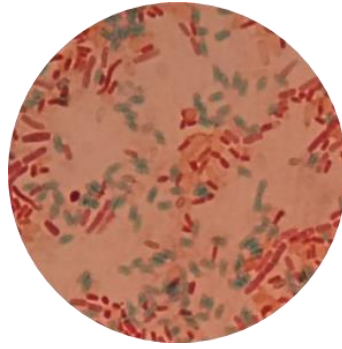
2. Pewarnaan Gram

Berdasarkan pewarnaan gramnya, bakteri dibagi menjadi 2 yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Pewarnaan gram dapat digunakan untuk determinasi bakteri, yaitu dengan melihat hasil akhir pewarnaan bakteri. Pada akhir pewarnaan, gram positif akan berwarna ungu (violet) dan bakteri gram negatif berwarna merah. Perbedaan tersebut terjadi karena adanya perbedaan komposisi dinding sel, dimana gram negatif lebih rumit dibanding dengan gram positif. Hasil pewarnaan gram dari bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* pada Tabel 4.2 menunjukkan perbedaan diantara keduanya.

Tabel 4.2 Pewarnaan Gram Bakteri

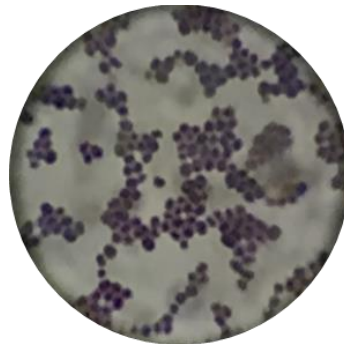
Ciri	Bakteri	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Bentuk sel	Batang/basil	Bola/coccus
Warna sel	Merah	Ungu
Sifat gram	Negatif	Positif

Bakteri *Escherichia coli* dilakukan pengamatan dengan perbesaran 1000x memiliki bentuk batang atau basil, terlepas satu sama lain atau bisa disebut streptobasil. Ketika dilakukan pewarnaan menunjukkan warna merah yang menandakan bahwa bakteri tersebut bersifat gram negatif. Hasil pewarnaan bakteri *E.coli* dapat dilihat pada Gambar 4.8.



Gambar 4.8 Pewarnaan Bakteri *E.coli* (Sumber : dok.pribadi)

Sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan pengamatan dengan perbesaran 1000x memiliki bentuk bola kecil atau kokus, bergerombol dan membentuk seperti rantai atau bisa disebut stafilocokus. Ketika dilakukan pewarnaan menunjukkan warna ungu yang menandakan bahwa bakteri tersebut bersifat gram positif. Hasil pewarnaan bakteri *S.aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.9.



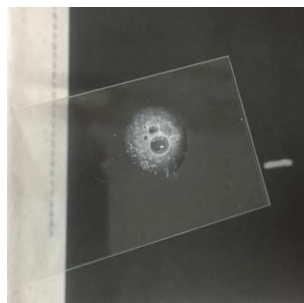
Gambar 4.9 Pewarnaan Bakteri *S.aureus* (Sumber : dok.pribadi)

Pada bakteri, dinding sel terletak di sebelah luar membran sel. Dinding sel bersifat kaku dinamakan peptidoglikan, berfungsi untuk menahan tekanan turgor, memberi bentuk bakteri, dan mengatur keluar masuknya zat. Struktur lapisan dinding sel bakteri gram positif dan gram

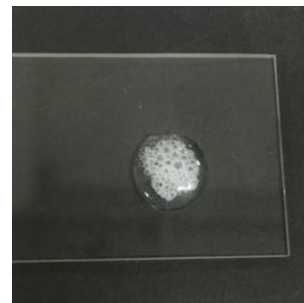
negatif berbeda. Pada dinding sel bakteri gram negatif susunan peptidoglikan terdiri atas beberapa lapis, sedangkan dinding sel bakteri positif susunan peptidoglikan terdiri atas berlapis-lapis. Dinding sel bakteri gram negatif pada lapisan paling luar adalah membran luar, maka apabila diberi pewarnaan akan berwarna pink yang merupakan warna safranin yang mewarnai membran luar. Sebaliknya, dinding sel bakteri gram positif pada lapisan paling luar adalah peptidoglikan, sehingga apabila diberi pewarnaan akan berwarna biru keunguan yang merupakan warna kristal violet yang mewarnai peptidoglikan.

3. Uji Katalase

Uji katalase adalah uji yang digunakan untuk mengetahui aktivitas katalase pada bakteri. Uji katalase dilakukan dengan pengambilan bakteri pada stok kultur dengan ose bulat, diletakkan pada kaca objek dan ditetesi dengan larutan H_2O_2 3%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gelembung-gelembung gas pada kaca objek. Hasil uji katalase dari bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.10.



(a) bakteri *E.coli*



(b) bakteri *S.aureus*

Gambar 4.10 Uji Katalase (Sumber: dok. Pribadi)

Berdasarkan uji katalase yang menunjukkan positif dan menghasilkan gelembung gas dikarenakan adanya pemecahan H_2O_2 atau hidrogen peroksida oleh enzim katalase yang dihasilkan oleh bakteri itu sendiri. Mekanisme enzim katalase memecah H_2O_2 yaitu saat melakukan respirasi, karena bakteri dapat menghasilkan berbagai macam komponen yang salah satunya adalah H_2O_2 . Bakteri dengan katalase positif akan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 dimana parameter menunjukkan adanya aktivitas katalase yaitu dengan gelembung oksigen seperti yang ditunjukkan pada gambar di atas.

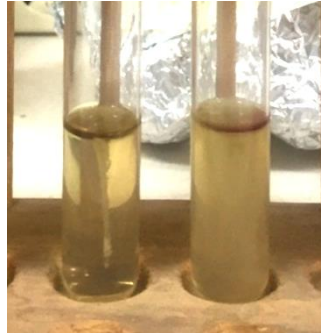
Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut.¹⁵

4. Uji Indol

Uji indol menggunakan media yang bernama *Sulfid Indol Motility* atau SIM dan menggunakan reagen kovac yang bertujuan untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Hasil uji sulfida positif jika terbentuk warna/endapan hitam dan negatif tidak terbentuk warna hitam. Hasil uji indol positif jika terbentuk cincin warna merah dan uji negatif tidak terbentuk warna merah. Uji motilitas positif jika terjadi pertumbuhan koloni merata pada media, uji negatif hanya ada

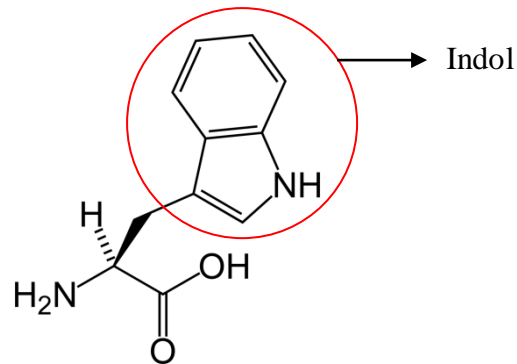
¹⁵ Dewi, *Isolasi, Identifikasi...*, hal. 145

pertumbuhan koloni di bekas tusukan. Hasil uji indol pada bakteri *E.coli* dan *S.aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Uji Indol (Sumber: dok. Pribadi)

Gambar tabung kiri menunjukkan hasil pengujian bakteri *Staphylococcus aureus* dengan hasil sulfida (-), indol (-), motilitas (-). Sedangkan tabung kanan menunjukkan hasil pengujian bakteri *Escherichia coli* dengan hasil sulfida (-), indol (+), motilitas (-). Uji indol dikatakan positif ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna merah pada medium, dimana hal ini menunjukkan bahwa bakteri memiliki enzim triptonase yang mampu menghidrolisis asam amino jenis triptofan yang memiliki gugus samping indol sehingga indol akan bereaksi dengan reagen uji dan membentuk indol yang berwarna merah. Untuk lebih jelasnya, rumus kimia asam amino triptofan dapat dilihat pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Asam Amino Triptofan¹⁶

Seperti yang telah dibahas diatas, makanan yang tercemar oleh bakteri patogen seperti *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menimbulkan berbagai macam penyakit. Bahaya terjangkitnya penyakit yang disebabkan oleh bakteri tersebut dapat dicegah dengan melakukan pasteurisasi yang cermat terhadap air susu dan hendaknya jangan minum air susu dalam keadaan mentah. Pemerintah berdaya upaya untuk mengamankan mutu air susu dengan mengadakan pengawasan terhadap kebersihan kandang, kesehatan lembu, cara-cara pemerahan dan menjual air susu.¹⁷

Allah telah memberikan anugerah kepada manusia berupa kemampuan untuk mengidentifikasi suatu benda ataupun makhluk hidup. Seperti firman Allah dalam surat Al-Baqarah ayat 31 yang berbunyi:

وَعَلَّمَ آدَمَ الْأَسْمَاءَ كُلَّهَا ثُمَّ عَرَضَهُمْ عَلَى الْمَلَائِكَةِ فَقَالَ أَنْبِئُونِي بِأَسْمَاءِ هَٰؤُلَاءِ إِنْ كُنْتُمْ صَادِقِينَ ﴿٣١﴾

¹⁶ Wikipedia, "Triptofan," dalam <https://id.wikipedia.org/wiki/Triptofan>, diakses 6 Juni 2020 Pukul 19.35

¹⁷ Dwidjoseputro, *Dasar-dasar Mikrobiologi...*, hal. 170

Artinya: “dan Dia mengajarkan kepada Adam Nama-nama (benda-benda) seluruhnya, kemudian mengemukakannya kepada Para Malaikat lalu berfirman: “Sebutkanlah kepada-Ku nama benda-benda itu jika kamu mamang benar orang-orang yang benar!”¹⁸

B. Hasil Penelitian Tahap II

1. Desain Produk

Sumber belajar yang dihasilkan pada penelitian ini berupa *booklet* dengan judul “Bakteri Patogen dalam Susu”. *Booklet* ini terdiri dari halaman sampul depan, ayat Al Qur’an, kata pengantar, daftar isi, materi, referensi, profil penulis, dan halaman sampul belakang. Gambar desain produk ini dapat dilihat pada Lampiran 11. Berikut deskripsi bagian-bagian pada sumber belajar *booklet*.

a. Halaman Sampul Depan

Pada halaman sampul depan memuat judul *booklet*, gambar yang berlatar objek penelitian, nama pengarang, dan logo IAIN Tulungagung. Tulisan kata “Bakteri Patogen dalam Susu” dibuat menggunakan jenis huruf *Century Gothic* dan menggunakan huruf kapital. Selain itu diberi animasi gambar yang berkaitan erat dengan isi *booklet* untuk memebrikan gambaran serta mempercantik sampul depan. Pada bagian pojok kiri atas diberi logo IAIN Tulungagung dan pojok kiri bawah diberi nama penulis. Latar belakang sampul depan berwarna putih, kuning dan hitam agar terlihat kontras dengan

¹⁸ Al Qur’an Surat Al Baqarah Ayat 31

judul dan senada dengan warna-warna yang terdapat pada halaman isi.

b. Halaman Ayat Al-Qur'an

Pada halaman ini terdapat ayat Al Qur'an yang berkaitan dengan materi dalam *booklet*. Penulis mendesain halaman dengan warna hijau tidak memberikan efek gambar yang bertujuan agar tulisan bisa dibaca dengan mudah. Penulisan kata menggunakan jenis huruf *Savoie LET* dengan ukuran huruf 18.

c. Halaman Kata Pengantar dan Daftar Isi

Pada halaman kata pengantar dan daftar isi diberikan latar belakang berwarna kuning. Jenis huruf pada isi kata pengantar menggunakan *Century Gotic* ukuran 12 dan daftar isi berukuran 14.

d. Halaman Materi

Pada halaman materi dituliskan beberapa materi yang bersumber dari buku serta hasil penelitian yang telah dilakukan. Desain materi menggunakan *background* berwarna kuning, hijau, dan putih yang diterapkan secara bergantian supaya menimbulkan efek yang menarik. Kemudian juga diberikan gambar supaya pembaca dapat lebih mendalami materi yang dituliskan. Jenis huruf yang digunakan pada isi materi menggunakan *Century Gotic* ukuran 12.

e. Halaman Referensi

Pada halaman referensi diberikan latar belakang penelitian berwarna hitam putih yang ditutup sebagian oleh *background* warna

hijau supaya mudah dibaca. Penulisan referensi menggunakan jenis huruf *Century Gotic* ukuran 10.

f. Halaman Profil Penulis

Pada halaman profil penulis berisikan tentang biografi penulis serta cerita tentang pendidikan yang ditempuh dan juga kehidupan yang sedang dijalani sekarang. Halaman ini berlatar belakang putih, kuning dan abu-abu.. Selain itu juga dilampirkan foto penulis yang diletakkan di bagian kanan bawah. Penulisan profil penulis menggunakan jenis huruf *Century Gotic* ukuran 12.

g. Halaman Sampul Belakang

Pada sampul belakang ini dituliskan sinopsis dari isi *booklet* dengan latar belakang sampul berwarna hitam dengan gambar yang sama dengan sampul depan yang diletakkan di atas. Bagian bawah gambar dituliskan judul *booklet*. Isi dari sinopsis menggunakan jenis huruf *Century Gotic* ukuran 10.

2. Hasil Validasi Produk

Validasi produk ini dilakukan oleh para ahli dan responden. Desain dari *booklet* dinilai oleh ahli media, kelengkapan isi materi dan penyajian dinilai oleh ahli materi, sedangkan aspek tampilan, penyajian materi, dan manfaat dinilai oleh responden. Uji kelayakan dinilai menggunakan angket skala *likert* dengan alternatif pilihan sangat kurang (skor 1), kurang (skor 2), baik (skor 3), dan sangat baik (skor 4). Hasil validasi para ahli dapat dilihat pada Lampiran 6 dan angket validasi responden

dapat dilihat pada Lampiran 8. Berikut ini adalah deskripsi validasi dari beberapa ahli:

a) Hasil Validasi oleh Ahli Materi

Uji kelayakan isi materi dilakukan oleh ahli materi yaitu Muhammad Iqbal Filayani, M.Si selaku dosen Tadris Biologi IAIN Tulungagung untuk menilai kelayakan sumber belajar berupa *booklet* dari segi materi dan penyajian. Berikut ini analisis data penilaian oleh ahli materi yang disajikan dalam Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Instrumen Hasil Validasi *Booklet* oleh Ahli Materi

No.	Aspek yang dinilai	Skor
1.	Keakuratan konsep dan definisi	3
2.	Keakuratan Fakta dan Data	4
3.	Keakuratan Gambar	4
4.	Keakuratan Istilah	3
5.	Tata Bahasa	4
6.	Ketepatan Nama Ilmiah	4
7.	Ketepatan Ayat Al Qur'an	4
8.	Ketepatan Penjelasan Materi	2
9.	Keruntutan Isi Materi	4
10.	Keruntutan Konsep	4
Total		36
Persentase		90%
Kriteria		Sangat valid

Berdasarkan Tabel 4.3 dapat dilihat bahwa hasil validasi sumber belajar *booklet* oleh ahli materi mendapatkan jumlah skor 36. Hasil persentase dari uji kelayakan sumber belajar *booklet* pada dengan skor 36 menghasilkan persentase sebesar 90%. Jika dikaitkan dengan tabel kriteria kevalidan pada Tabel 3.9, sumber belajar *booklet* dinyatakan sangat valid. Validator ahli materi menambahkan

beberapa saran perbaikan sumber belajar *booklet* yang terlampir pada Lampiran 7. Berikut saran perbaikan dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Saran Perbaikan *Booklet* oleh Ahli Materi

No.	Bagian yang Salah	Saran Perbaikan
1.	Kesalahan menggunakan kata ganti	Kata “bisa” diganti dengan “dapat”.
2.	Step penanaman bakteri belum tertulis	Metode penanaman bakteri pada cawan lebih bagus ditulis step-stepnya dengan jelas.
3.	Kesalahan konsep	Bakteri bukan berasal dari kelompok tumbuhan. Pada klasifikasi kingdom, bakteri masuk ke kingdom monera.
4.	Penulisan nama spesies ditulis tegak	Nama spesies ditulis miring.

b) Hasil Validasi oleh Ahli Media

Uji kelayakan media dilakukan oleh ahli media yaitu Nanang Purwanto, M.Pd selaku dosen Tadris Biologi IAIN Tulungagung untuk menilai kelayakan sumber belajar berupa *booklet* dari segi kegrafikan. Berikut ini analisis data penilaian oleh ahli media yang disajikan dalam Tabel 4.5.

Tabel 4.5 Instrumen Hasil Validasi *Booklet* oleh Ahli Media

No.	Aspek yang dinilai	Skor
1.	Kesesuaian ukuran <i>booklet</i> dengan standart ISO	4
2.	Kesesuaian ukuran dengan materi isi	3
3.	Penampilan unsure tata letak pada <i>cover</i> depan dan belakang secara harmonis memiliki irama dan kesatuan serta konsistensi	2
4.	Menampilkan pusat pandang <i>center point</i> yang baik	2
5.	Warna unsur tata letak harmonis dan memperjelas fungsi	3

6.	Ukuran huruf judul <i>booklet</i> lebih dominan dan proporsional dibandingkan nama pengarang	2
7.	Warna judul <i>booklet</i> kontras dengan warna latar belakang	4
8.	Tidak menggunakan jenis huruf yang terlalu dekoratif	3
9.	Menggambarkan isi materi <i>booklet</i> dan mengungkapkan karakter obyek	3
10.	Bentuk, warna, ukuran, proporsi obyek sesuai realita	3
11.	Penempatan unsur tata letak konsisten berdasarkan pola	2
12.	Pemisahan antar paragraf terpisah dengan jelas	4
13.	Bidang cetak dan <i>margin</i> proporsional	3
14.	Penempatan hiasan/ilustrasi sebagai latar belakang tidak mengganggu judul, teks, angka halaman	4
15.	Tidak terlalu banyak menggunakan jenis dan variasi huruf	3
16.	Ilustrasi isi, kreatif, dan dinamis	3
Total		48
Presentase		75%
Kriteria		Valid

Berdasarkan Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa hasil validasi sumber belajar *booklet* oleh ahli media mendapatkan jumlah skor 48. Hasil persentase dari uji kelayakan sumber belajar *booklet* dengan skor 48 menghasilkan persentase sebesar 75%. Jika dikaitkan dengan tabel kriteria kevalidan pada Tabel 3.9, sumber belajar *booklet* dinyatakan valid. Validator ahli media menambahkan beberapa saran perbaikan sumber belajar *booklet* yang terlampir pada Lampiran 7. Berikut saran perbaikan dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Saran Perbaikan *Booklet* oleh Ahli Media

No.	Bagian yang Salah	Saran Perbaikan
1.	Penataan logo, nama penulis, dan nama produk.	Logo dan nama lembaga berada di margin bagian bawah. Sedangkan nama penulis sebaiknya berada di tengah. Nama produk dimunculkan dalam cover.
2.	Penulisan kata pengantar	Kata pengantar harus ada penjelasan ringkas tentang point utama isi.
3.	Kaidah penulisan daftar isi	Benahi posisi halaman pindah sebelah kanan.

4.	Penggunaan gambar	Usahakan gunakan gambar hasil jepretan sendiri. Jika mengambil gambar dari internet, diberikan sumbernya.
5.	Penulisan bab, sub bab, dan seterusnya	Gunakan huruf dan warna huruf yang berbeda jika tingkatannya berbeda.

c) Hasil Validasi oleh Responden

Selain kepada ahli media dan ahli materi, validasi juga dilakukan pada responden yaitu mahasiswa Tadris Biologi IAIN Tulungagung semester VI. Penilaian sumber belajar *booklet* meliputi aspek tampilan, penyajian materi, dan manfaat. Angket penilaian responden dapat dilihat pada Lampiran 8. Dari penilaian yang diberikan oleh responden memiliki jumlah skor yang berbeda-beda antara lain: responden 1 dengan jumlah skor 59, responden 2 dengan jumlah skor 49, responden 3 dengan jumlah skor 49, responden 4 dengan jumlah skor 50, responden 5 dengan jumlah skor 57, responden 6 dengan jumlah skor 5, responden 7 dengan jumlah skor 45, responden 8 dengan jumlah skor 59, responden 9 dengan jumlah skor 46, responden 10 dengan jumlah skor 47, dan responden 11 dengan jumlah skor 54. Jika dirata-rata menjadi 86% dan dinyatakan sangat valid. Penilaian yang telah diberikan oleh responden dapat ditarik kesimpulan seperti pada Tabel 4.7 berikut:

Table 4.7 Hasil Validasi Responden

Validator	Jumlah Skor	Persentase	Rata-rata Skor
Responden 1	59	98%	86%
Responden 2	49	81%	
Responden 3	49	81%	
Responden 4	50	83%	

Responden 5	57	95%
Responden 6	56	93%
Responden 7	45	75%
Responden 8	59	98%
Responden 9	46	76%
Responden 10	47	78%
Responden 11	54	90%

Sedangkan hasil validasi dari seluruh validator yang meliputi ahli materi, ahli media, dan responden dapat ditarik kesimpulan seperti pada Tabel 4.8. Persentase yang diperoleh dari rata-rata penilaian yaitu sebesar 83% yang menyatakan bahwa sumber belajar *booklet* sangat valid.

Table 4.8 Rekapitulasi Hasil Validasi

Validator	Presentase	Rata-rata	Kriteria
Ahli materi	90%		
Ahli media	75%	83%	Sangat Valid
Responden	86%		

3. Revisi Desain Produk

Hasil uji kelayakan oleh para ahli merupakan bentuk penilaian yang digunakan sebagai perbaikan produk yang dikembangkan. Terdapat beberapa yang perlu diperbaiki untuk menghasilkan produk yang lebih sempurna. Berikut hasil revisi produk dari para ahli:

- a) Penataan nama penulis yang semula terletak di tepi diubah ke tengah.
- b) Menambahkan nama produk pada sampul depan yang semula belum tertulis.
- c) Kata pengantar diberi penjelasan ringkas tentang point utama isi yang semula belum tertulis.

- d) Penulisan daftar isi yang semula nomor halaman terletak di sebelah kiri dipindah ke sebelah kanan.
- e) Menuliskan sumber dari foto yang digunakan di dalam *booklet*.
- f) Pembedaan konsep yang semula bakteri masuk ke dalam kelompok tumbuhan menjadi ke dalam kingdom Monera.
- g) Menambahkan langkah-langkah penanaman bakteri pada cawan yang semula belum tertulis dalam *booklet*.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa penggunaan *booklet* sebagai sumber belajar sangat efektif untuk meningkatkan keberhasilan siswa/mahasiswa dalam belajar. *Booklet* dirancang supaya mudah digunakan dan praktis. *Booklet* yang berisikan tentang penelitian ini dinilai dapat memberikan pengaruh positif terhadap kemampuan analisis serta dapat mengatasi keterbatasan waktu belajar.¹⁹ Dengan adanya *booklet* ini akan mempermudah siswa/mahasiswa dalam proses belajarnya, dan mendapatkan pengetahuan tambahan.

¹⁹ Mutia Imtihana, dkk, "Pengembangan Buklet Berbasis Penelitian sebagai Sumber Belajar Materi Pencemaran Lingkungan di SMA," dalam *Unnes Journal of Biology Education* 3, no. 2 (2014): 191