

# ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENYEBAB *FOODBORNE DISEASE* PADA DAGING SAPI YANG BERASAL DARI PASAR TRADISIONAL KOTA BANDUNG

Anisa Mariah Bariz<sup>1</sup>, Yolani Syaputri<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jatinangor 45363, Jawa Barat, Indonesia  
Email: <sup>1</sup>[anisambz@gmail.com](mailto:anisambz@gmail.com), <sup>2</sup> [yolani.syaputri@unpad.ac.id](mailto:yolani.syaputri@unpad.ac.id)

## ABSTRAK

Kontaminasi mikroba patogen pada daging sapi menyebabkan risiko yang serius terhadap kesehatan konsumen. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui keberadaan bakteri patogen pada daging sapi yang diperoleh dari Pasar Tradisional Kota Bandung. Sebanyak 1 gr daging sapi dihaluskan secara aseptis dan diencerkan hingga pengenceran  $10^{-6}$ . Selanjutnya tiga pengenceran terakhir dilakukan penanaman dengan metode *spread plate* pada media selektif *Eosin Methylene Blue* (EMB), *Salmonella-Shigella Agar* (SSA), dan *Mannitol Salt Agar* (MSA) kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Koloni yang menciri dikultivasi ke dalam media agar miring. Setelah itu, dilakukan uji pewarnaan gram, uji IMViC, uji motilitas, dan uji katalase. Hasil identifikasi menggunakan uji biokimia menunjukkan adanya bakteri *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., dan *Neisseria* sp.

**Kata kunci** : Bakteri Patogen, Daging sapi, *Foodborne Disease*, Keamanan pangan, Pasar tradisional

## ABSTRACT

*The contamination of beef with pathogenic microbes poses a serious risk to consumer health. This study aimed to determine the presence of pathogenic bacteria in beef obtained from traditional markets in Bandung City. One gram of beef was aseptically homogenized and diluted to a  $10^{-6}$  dilution. The last three dilutions were then cultured using the spread plate method on selective media Eosin Methylene Blue (EMB), Salmonella-Shigella Agar (SSA), and Mannitol Salt Agar (MSA) and incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 24 hours. The characteristic colonies were cultured into slant agar media and incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 24 hours. Subsequently, gram staining, IMViC test, motility test, and catalase test were conducted. The identification results using biochemical tests showed the presence of Enterobacter sp., Proteus sp., Pseudomonas sp., Alcaligenes sp., and Neisseria sp.*

**Keywords** : Beef, Food safety, Foodborne disease, Pathogenic bacteria, Traditional market

## PENDAHULUAN

Daging merupakan sumber nutrisi dengan kandungan protein, asam amino esensial, vitamin B, zat besi, dan mineral lainnya (Maiyena dan Mawarnis, 2022). Dengan nutrisi tersebut, daging merupakan kondisi yang sangat ideal bagi pertumbuhan bakteri patogen dan mikroorganisme pembusuk. Kualitas daging dapat dianalisis melalui berbagai aspek, di antaranya kualitas kimia, fisik, dan mikrobiologi. Kualitas kimia mencakup pH, kadar protein dan lemak, kadar air, serta kadar abu daging. Sedangkan, kualitas fisika dapat dilihat dari perubahan warna, aroma, maupun tekstur daging (Supriyatin dkk., 2020).

Kerusakan pada daging sapi akibat adanya mikroba dapat disebabkan oleh faktor internal maupun eksternal. Faktor internal antara lain nilai gizi daging, kadar air, dan derajat keasaman. Daging yang rentan terkontaminasi adalah daging yang memiliki pH berkisar antara 5,5 – 6,3. Sementara itu, faktor eksternal dapat dipengaruhi oleh suhu, kelembaban, dan ketersediaan oksigen. Daging yang terkontaminasi mikroorganisme akan mengalami perubahan tekstur, berjamur, berbau busuk, rasa tidak sedap, serta berisiko mengalami penyakit atau gangguan kesehatan apabila mengonsumsinya (Ulfiani dkk., 2022).

Mikroorganisme yang dapat menimbulkan penyakit disebut juga sebagai patogen. Sedangkan, kemampuan mikroorganisme dalam menyebabkan penyakit disebut patogenisitas (Sarmah *et al.*, 2018). Menurut Indriyani dkk. (2019), sumber pencemaran bakteri pada daging dapat berasal dari tempat pemotongan hewan hingga daging dikonsumsi. Tempat pemotongan hewan yang memiliki tingkat higienitas rendah berpotensi menumbuhkan kecenderungan kontaminasi (Safitri dkk., 2019). Selain itu, setiap tahapan panjang antara tempat pemotongan, pedagang, dan tempat daging terjual dapat meningkatkan bahaya kontaminasi mikroba (Kabede *and* Getu, 2023).

Dalam beberapa tahun terakhir, penyakit bawaan makanan (*foodborne disease*) telah meningkat di berbagai negara berkembang akibat konsumsi produk susu dan daging yang kurang matang (Ribah *et al.*, 2023). Penyakit bawaan makanan sangat berbahaya karena menyebabkan berbagai penyakit dan kematian secara global. Diketahui pada tahun 2010, terdapat 600 juta penyakit bawaan makanan dan mencapai 420.000 kematian (WHO, 2015). Sejumlah kasus tersebut disebabkan oleh berbagai macam mikroorganisme patogen umum yang mudah terbawa makanan seperti *C. jejuni*, *E. coli*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enterica*, *Vibrio* spp., dan *Clostridium perfringens* (Naser *et al.*, 2022).

Kontaminasi patogen pada daging sapi menyebabkan berbagai masalah keamanan pangan serta berdampak serius terhadap individu, dunia usaha, dan masyarakat (Warmate and Onarinde, 2023). Oleh sebab itu, perlu dilakukan identifikasi cemaran bakteri patogen pada daging sapi melalui karakterisasi morfologi dan berbagai uji biokimia sehingga dapat diambil langkah-langkah yang tepat untuk mengevaluasi keamanan pangan, kebersihan, dan kualitas daging sapi yang dikonsumsi oleh masyarakat.

## **METODE PENELITIAN**

### **Alat**

Alat yang digunakan antara lain batang L, bunsen, cawan petri, gelas ukur, gelas objek, *hotplate*, inkubator, labu erlenmeyer 250 ml, *magnetic stirrer*, mikropipet, mikroskop, neraca analitik, ose, plastik zip, pipet tetes, rak tabung reaksi, dan tabung reaksi.

### **Bahan**

Bahan yang digunakan antara lain adalah akuades, alfa-naftol, alkohol 95%, daging sapi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Kristal violet, KOH 40%, lugol, NaCl fisiologis, Media Sulfide Indol Motility (SIM), media EMB, SSA, dan MSA, *Methyl Red*, minyak imersi, Reagen Kovac's, Reagen MR, Voges-Proskauer, safranin, dan *Simmon's Citrate Agar*.

### **Pengambilan Sampel**

Daging sapi sebanyak 50 gr diperoleh dari salah satu pasar tradisional di Kota Bandung. Sampel kemudian disimpan ke dalam wadah steril dan diberi label. Sampel dibusukkan dengan cara didiamkan selama 5 hari pada suhu ruang dalam wadah tertutup. Selanjutnya, sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjadjaran untuk dianalisis.

### **Isolasi Bakteri**

Sampel daging sapi sebanyak 1 gr dipotong dan dimasukkan ke dalam 9 ml NaCl 0,9%. Setelah itu, dilakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran 10<sup>-6</sup>. Tiga seri pengenceran terakhir diinokulasikan pada ketiga media selektif menggunakan metode *spread plate* dengan dua kali pengulangan. Media biakan selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Koloni yang tumbuh terpisah dari koloni lain pada media selektif (EMB, SSA, MSA) kemudian diperbanyak kembali pada media selektif miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah murni, isolat diuji pewarnaan gram untuk menentukan morfologi sel bakteri.

## Pewarnaan Gram

Menurut Rahmatullah (2021), teknik pewarnaan gram dilakukan dengan cara mensterilkan kaca objek menggunakan alkohol 96% kemudian dilewatkan pada api bunsen selama beberapa kali dan ditunggu hingga dingin. Pertama, ambil 1 ose koloni dan dioleskan pada kaca objek secara aseptis. Selanjutnya fiksasi dengan cara melewatkan pada api bunsen sebanyak tiga kali. Teteskan kristal violet pada kaca objek hingga menutupi sediaan, kemudian diamkan selama 30-60 detik lalu dicuci dengan akuades. Selanjutnya, preparat ditetesi larutan lugol, didiamkan selama 1-2 menit, dan dibilas kembali menggunakan akuades. Setelah itu, preparat didekolorisasi menggunakan alkohol 96% selama 5 detik, lalu dibilas menggunakan akuades. Kaca objek diberi pewarna safranin selama 1 menit dan dibilas kembali menggunakan akuades. Setelah pewarnaan, preparat diamati di bawah mikroskop hingga perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi. Bakteri yang berwarna ungu menandakan bakteri gram positif, sementara bakteri yang berwarna merah menandakan bakteri gram negatif.

## Uji Indole

Prosedur awal pada uji indol adalah sebanyak 0,9 gr bubuk SIM dilarutkan ke dalam 30 ml akuades, media kemudian dipanaskan dan diaduk hingga homogen menggunakan *magnetic stirrer*. Media dituangkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5 ml dan disterilisasi selama 15 menit. Satu ose koloni diinokulasikan pada media SIM dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media biakan ditetesi reagen kovac sebanyak 3-5 tetes. Hasil positif ditandai dengan adanya cincin berwarna merah pada permukaan media yang menandakan bahwa bakteri tersebut mampu mereduksi senyawa triptofan (Rifai, 2021).

## Uji MR-VP

Uji MR-VP dilakukan dengan cara melarutkan 1,02 gr bubuk MR-VP dengan akuades 60 ml, kemudian dipanaskan dan dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirrer*. Media dituangkan pada tabung reaksi sebanyak 5 ml kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit. Satu ose koloni diambil dan diinokulasikan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Untuk uji MR, media biakan ditambahkan 5 tetes metil red dan didiamkan selama beberapa menit. Warna merah akan menunjukkan hasil positif, sedangkan warna kuning menunjukkan hasil negatif (Pertiwi dkk., 2021). Sementara untuk uji VP, media biakan tambahkan 0,6 ml larutan naphthol dan 0,2 ml larutan KOH, kemudian dihomogenisasi dan dibiarkan selama 2-4 jam. Adanya perubahan warna menjadi merah tua menunjukkan hasil positif (Safrida dan Thaharah, 2020).

### **Uji Simmon's Citrate**

Sebanyak 0,67 gr serbuk *Simmons Citrate (SC) Agar* dilarutkan ke dalam 30 ml akuades, kemudian panaskan dan homogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, tuangkan 5 ml media sitrat ke dalam tabung reaksi untuk disterilisasi. Satu koloni terpisah diinokulasikan pada media agar miring SC menggunakan teknik *streak* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif terhadap bakteri koliform akan menunjukkan warna biru pada media SC (Safrida dan Thaharah, 2020).

### **Uji Motilitas**

Pengujian motilitas bakteri patogen dilakukan menggunakan media SIM. Pertama, isolat dari masing-masing media selektif ditusukkan pada agar tegak semi solid (media SIM tegak), selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Uji motilitas dinyatakan positif apabila pertumbuhan bakteri menyebar ke luar tusukan jarum, sedangkan bakteri yang tumbuh hanya pada area tusukan jarum saja, uji dapat dinyatakan negatif (Detha dkk., 2019).

### **Uji Katalase**

Uji Katalase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> menggunakan enzim katalase. Uji katalase dilakukan dengan cara mengambil satu ose koloni kemudian meletakkannya pada kaca objek yang telah ditetesi satu tetes H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung setelah ditetesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sedangkan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya gelembung (Hamidah dkk., 2019).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Isolasi Bakteri**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging sapi yang berasal dari pasar tradisional Kota Bandung. Sampel kemudian dibusukkan dengan cara didiamkan selama 5 hari pada suhu ruang dalam wadah tertutup. Selanjutnya, sampel dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Universitas Padjadjaran untuk diinokulasikan ke dalam media selektif *Eosin Methylene Blue Agar (EMB)*, *Mannitol Salt Agar (MSA)*, dan *Salmonella Shigella Agar (SSA)*.

### **Karakteristik morfologi Isolat Asal Daging Sapi**

Berdasarkan hasil inkubasi, ditemukan 8 koloni dengan karakteristik morfologi yang berbeda. Uji morfologi kedelapan isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media agar meliputi bektuk koloni, warna koloni, tepian, elevasi, transparansi terhadap cahaya, dan tekstur. Koloni bakteri yang tumbuh pada media EMBA diberi kode dengan huruf A, koloni yang tumbuh pada

media MSA diberi kode dengan huruf B, sedangkan koloni yang tumbuh pada media SSA diberi kode dengan huruf C. Data pengamatan morfologi 8 isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 2. Morfologi koloni bakteri dapat memberikan beberapa petunjuk untuk identitas bakteri, tetapi diperlukan analisis lebih lanjut menggunakan mikroskop dan uji biokimia (Nicolaidou *et al.*, 2019).

**Tabel 1.** Karakteristik morfologi koloni hasil isolasi dari daging sapi

Kode Isolat	Morfologi Koloni						
	Ukuran koloni	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Margin	Elevation	Apperance	Tekstur
A1	<i>Moderate</i>	<i>circular</i>	merah muda	<i>entire</i>	<i>flat</i>	<i>translucent</i>	<i>muroid</i>
A2	<i>Small</i>	<i>circular</i>	merah muda	<i>entire</i>	<i>flat</i>	<i>translucent</i>	<i>smooth</i>
A3	<i>Punctiform</i>	<i>circular</i>	merah muda	<i>entire</i>	<i>flat</i>	<i>translucent</i>	<i>smooth</i>
B1	<i>Large</i>	<i>circular</i>	putih	<i>entire</i>	<i>convex</i>	<i>opaque</i>	<i>muroid</i>
B2	<i>Small</i>	<i>circular</i>	oranye	<i>entire</i>	<i>convex</i>	<i>opaque</i>	<i>smooth</i>
C1	<i>large</i>	<i>circular</i>	hitam	<i>entire</i>	<i>convex</i>	<i>opaque</i>	<i>smooth</i>
C2	<i>Moderate</i>	<i>circular</i>	hitam	<i>entire</i>	<i>convex</i>	<i>opaque</i>	<i>smooth</i>
C3	<i>large</i>	<i>circular</i>	bening	<i>entire</i>	<i>umbonate</i>	<i>translucent</i>	<i>rough</i>

Berdasarkan hasil pengamatan koloni secara makroskopis pada Tabel 1, bakteri yang tumbuh pada media EMBA (isolat A1, A2, dan A3) memiliki bentuk sirkular dengan ukuran koloni yang berbeda. Koloni bakteri pada media EMBA seluruhnya berwarna merah muda yang menandakan bahwa bakteri tersebut tidak mampu memfermentasikan laktosa (Saimin *et al.*, 2020). Pada media MSA, isolat B1 memiliki warna koloni putih dengan tekstur seperti lendir serta mampu mengubah warna media MSA menjadi warna kuning yang menandakan bahwa bakteri tersebut mampu memfermentasi mannitol. Sedangkan media MSA yang ditumbuhi isolat B2 tetap berwarna merah yang berarti isolat tersebut tidak mampu memfermentasikan mannitol. Pada media SSA, koloni isolat C1 dan C2 berbentuk sirkular dengan tekstur halus, serta berwarna hitam yang berarti kedua isolat tersebut memproduksi H<sub>2</sub>S. Sedangkan isolat C3 memiliki bentuk koloni sirkular dengan tekstur kasar, berwarna bening, dan tidak memproduksi H<sub>2</sub>S.

## Pemurnian Isolat Bakteri

Setelah identifikasi morfologi, koloni terpilih diambil dan dipurifikasi dengan cara menggoreskan koloni pada agar miring kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Isolat bakteri yang diperoleh kemudian diuji konfirmasi untuk memastikan genus isolat tersebut. Uji konfirmasi dilakukan pada kedelapan isolat menggunakan uji pewarnaan Gram, Uji *Indole*, *Methyl Red (MR)*, *Voges Proskauer (VP)*, *Simon's citrate (SC)*, uji motilitas, dan uji katalase.

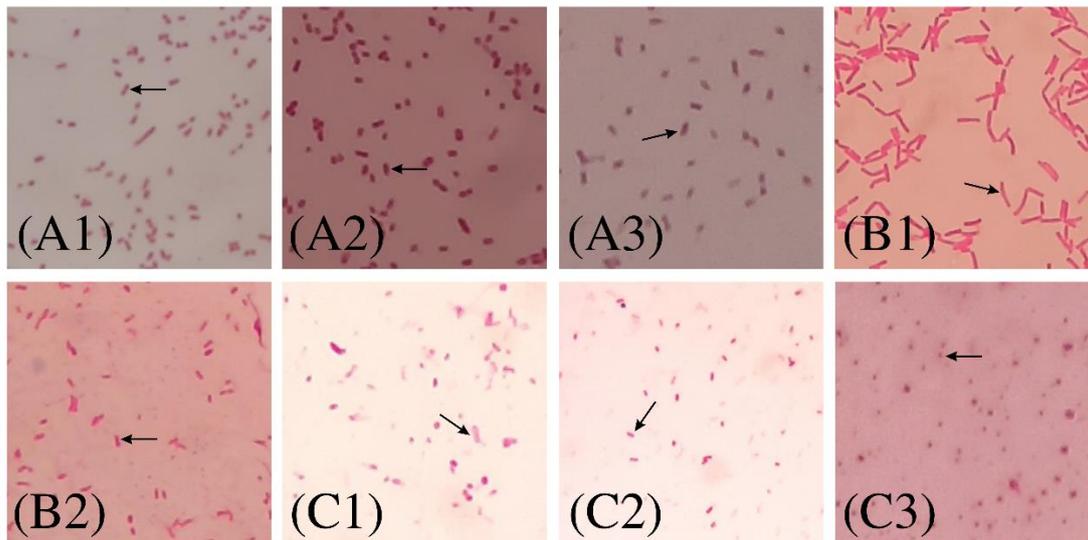
## Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan pada kultur bakteri yang telah murni menggunakan reagen karbol violet, alkohol, dan air fuschin. Morfologi sel bakteri kemudian diamati menggunakan mikroskop perbesaran 1000x dibantu dengan penambahan minyak imersi agar terlihat jelas dan mencegah perbedaan indeks bias (Setiawati dkk., 2022). Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 2.** Morfologi koloni bakteri pada pewarnaan gram

Kode Isolat	Bentuk	Warna	Sifat Gram
A1	Batang pendek	Merah muda	Negatif (-)
A2	Batang pendek	Merah muda	Negatif (-)
A3	Batang pendek	Merah muda	Negatif (-)
B1	Batang panjang	Merah muda	Negatif (-)
B2	Batang panjang	Merah muda	Negatif (-)
C1	Batang pendek	Merah muda	Negatif (-)
C2	Batang pendek	Merah muda	Negatif (-)
C3	Kokus	Merah muda	Negatif (-)

Berdasarkan Tabel 2, hasil pewarnaan gram menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri bersifat Gram negatif yang ditunjukkan dengan warna merah pada sel bakteri. Warna merah tersebut disebabkan karena bakteri gram negatif memiliki lapisan peptidoglikan yang tipis sehingga air fuschin mudah diserap setelah proses dekolorisasi oleh alkohol (Cappuccino and Sherman, 2014). Hasil pengamatan seluruh isolat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengamatan isolat di bawah perbesaran 1000x

### Uji IMViC

Uji IMViC digunakan untuk mengidentifikasi kelompok utama Enterobacteriaceae berdasarkan sifat biokimia dan reaksi enzimatik pada substrat spesifik. Rangkaian uji IMViC meliputi uji indol, *Methyl Red*, *Voges-Proskauer*, dan Sitrat (Cappuccino and Sherman, 2014). Bakteri yang telah ditanam pada media IMViC kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil inkubasi uji IMViC dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 3. Hasil analisis uji IMViC

Kode Isolat	Hasil			
	Indole	MR	VP	Sitrat
A1	-	-	+	+
A2	+	+	-	+
A3	-	-	-	+
B1	-	-	-	-
B2	-	-	-	-
C1	+	-	+	+
C2	+	-	+	+
C3	-	-	-	+

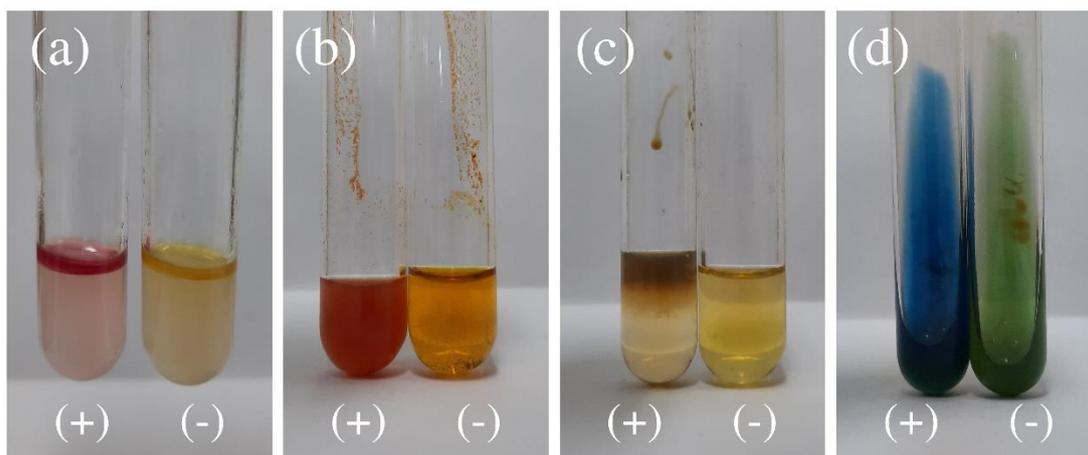
Uji indol dilakukan untuk mengidentifikasi mikroorganisme tertentu yang mampu memetabolisme triptofan oleh triptofanase sehingga menghasilkan asam piruvat, indol, dan ammonia. Reaksi antara indol dengan reagen kovac's akan menghasilkan warna merah pada permukaan atas media (Jain *et al.*, 2020). Berdasarkan Tabel 3, hasil positif indol ditunjukkan pada isolat A2, C1, dan C2. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan medium setelah penambahan reagen Kovac's sebanyak 3-5 tetes. Hal tersebut

menandakan bahwa isolat A2, C1, dan C2 mampu memetabolisme triptofan oleh triptofanase sehingga menghasilkan indol.

Uji *Methyl Red* berdasarkan Tabel 3 hanya menunjukkan hasil positif pada isolat A2 yang ditandai dengan perubahan warna pada media menjadi merah. Hal tersebut disebabkan karena beberapa mikroorganisme dapat menghasilkan asam organik dalam jumlah besar sehingga menurunkan pH di bawah 4,4. Ketika *methyl red* ditetaskan pada kultur dengan pH rendah, akan menghasilkan warna merah. Sedangkan, *methyl red* yang ditetaskan pada media kultur dengan pH di atas 6 akan menghasilkan warna kuning karena bakteri memetabolisme asam piruvat menjadi produk akhir yang netral (Shanmugaraj *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil uji VP pada Tabel 3, isolat A1, C1, dan C2 menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi lebih keruh. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Haryati (2020) yang menyatakan bahwa isolat dengan hasil VP positif memiliki warna yang agak keruh karena mampu memproduksi asam stabil. Uji ini dilakukan untuk menentukan kemampuan beberapa organisme dalam menghasilkan produk akhir yang bersifat netral, seperti asetilmetilkarbinol dari asam organik yang dihasilkan dari metabolisme glukosa. Reaksi antara asetilmetilkarbinol dengan katalis  $\alpha$ -naftol dan oksidasi KOH menyebabkan terbentuknya kompleks merah muda (Cappuccino & Sherman, 2014).

Uji sitrat bertujuan untuk melihat adanya kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Sitrat dikatalis oleh enzim citrase sehingga menghasilkan asam oksaloasetat dan asetat. Produk tersebut kemudian diubah menjadi asam piruvat dan karbon dioksida oleh reaksi enzimatik. Dalam reaksi ini, lingkungan menjadi basa dan karbon dioksida yang dihasilkan berikatan dengan natrium dan air untuk membentuk natrium karbonat. Natrium karbonat tersebut mengubah indikator *bromothymol blue* menjadi biru (Cappuccino and Sherman, 2014). Isolat yang menunjukkan hasil positif sitrat berdasarkan Tabel 4 adalah isolat A1, A2, A3, C1, C2, dan C3. Hasil positif sitrat ditandai dengan adanya perubahan warna media dari hijau ke biru karena aktivitas bakteri yang memfermentasi sitrat sebagai sumber karbon. Hasil positif dan negatif uji IMViC dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil positif dan negatif uji indole (a), methyl red (b), voges proskauer (c), dan sitrat (d).

### Uji Motilitas

Isolat yang menunjukkan hasil positif uji motilitas pada Tabel 6 antara lain adalah A1, A2, A3, B1, C1, dan C2 yang ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar dari daerah tusukan ose. Bakteri dapat bersifat motil karena memiliki flagela sebagai alat gerak, sedangkan bakteri nonmotil tidak memiliki flagela sehingga pertumbuhannya hanya terdapat pada daerah tusukan ose (Damayanti dkk., 2018).

### Uji Katalase

Pengujian katalase dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim katalase yang berperan dalam hidrolisis hidrogen peroksida. Enzim ini diproduksi oleh bakteri aerotoleran (Mulyani *et al.*, 2021). Seluruh isolat menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya gelembung gas setelah pemberian hidrogen peroksida. Isolat B1 dan B2 menghasilkan gelembung dalam jumlah yang banyak dibandingkan isolat lainnya. Berdasarkan hasil pengamatan pada Tabel 4, seluruh isolat mampu mereduksi hidrogen peroksida.

**Tabel 4.** Hasil pengamatan uji katalase

Kode isolat	Uji Katalase
A1	++
A2	++
A3	++
B1	+++
B2	+++
C1	+

C2	+
C3	+

### Hasil Identifikasi Biokimia Isolat Daging Sapi

Berdasarkan hasil pewarnaan gram, uji IMViC, uji motilitas, dan uji katalase, didapatkan hasil sebagai berikut.

**Tabel 5.** Data hasil pengamatan seluruh isolat

Kode Isolat	Bentuk sel	Uji IMViC				Motilitas	Katalase	Bakteri
		Indole	MR	VP	Sitrat			
A1	Batang	-	-	+	+	+	+	<i>Enterobacter</i> sp.
A2	Batang	+	+	-	+	+	+	<i>Proteus</i> sp.
A3	Batang	-	-	-	+	+	+	<i>Pseudomonas</i> sp.
B1	Batang	-	-	-	-	+	+	<i>Alcaligenes</i> sp.
B2	Batang	-	-	-	-	-	+	<i>Enterobacter</i> sp.
C1	Batang	+	-	+	+	+	+	<i>Proteus</i> sp.
C2	Batang	+	-	+	+	+	+	<i>Proteus</i> sp.
C3	Kokus	-	-	-	+	-	+	<i>Neisseria</i> sp.

Pada Tabel 1, isolat A1, A2, dan A3 memiliki bentuk koloni sirkular dan berwarna merah muda pada media EMBA yang menandakan bahwa bakteri tersebut tidak mampu memfermentasikan laktosa. Bentuk sel berupa batang, bersifat motil, dan mampu mendegradasi hidrogen peroksida (Tabel 4). Hasil uji IMViC pada isolat A1 dapat diidentifikasi bahwa isolat tersebut merupakan *Enterobacter* sp.. Hal itu diperkuat oleh (Cappuccino and Sherman, 2014) yang menyatakan bahwa *Enterobacter* sp. merupakan bakteri motil, berbentuk batang, mampu menghidrolisis hidrogen peroksida, indol negatif, MR negatif, VP positif, dan sitrat positif. Spesies *Enterobacter* mampu bertahan hidup di berbagai jenis lingkungan. Bakteri ini dapat menyebabkan infeksi kulit dan jaringan lunak, pneumonia, meningitis, dan infeksi saluran kemih (Rizi *et al.*, 2019). Hasil uji imvic pada isolat A2 menunjukkan bahwa bakteri tersebut serupa dengan bakteri *Proteus* sp.. Bakteri ini memiliki flagela peritrik untuk membantu pergerakannya. Menurut Cappuccino and Sherman (2014), *Proteus* sp. berbentuk batang, mampu menghidrolisis hidrogen peroksida, positif indol, positif MR, negatif VP, dan positif Sitrat. *Proteus* sp. dapat menyebabkan penyakit gastroenteritis dan ditemukan lebih banyak pada pasien diare (Hamilton *et al.*, 2018). Sementara itu, isolat A3 menunjukkan hasil yang sesuai dengan karakteristik biokimia bakteri *Pseudomonas* sp. (Cappuccino and Sherman, 2014). *Pseudomonas* sp. diketahui dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, sistem saraf pusat, endokarditis, dan pneumonia (Iglewski, 1996).

Isolat B1 memiliki bentuk koloni sirkular, berwarna putih, dan memiliki tekstur seperti lendir yang tumbuh pada media MSA. Bakteri ini memiliki bentuk sel batang, Gram negatif, dan katalase positif. Hasil uji IMViC berupa negatif indol, negatif MR, negatif VP, dan negatif Sitrat. Dari hasil identifikasi menggunakan buku Cappuccino *and* Sherman (2014), bakteri tersebut merupakan *Alcaligenes* sp.. Bakteri ini berdampak negatif bagi kesehatan manusia karena memiliki kemampuan resistensi terhadap antibiotik umum dan sering menyebabkan infeksi nosokomial (Ethica *et al.*, 2017). Sementara itu, isolat B2 memiliki bentuk koloni sirkular, berwarna oranye, dan bertekstur halus. Seluruh uji biokimia pada isolat ini menunjukkan hasil negatif, bersifat nonmotil, dan mampu mereduksi hidrogen peroksida. Berdasarkan hasil identifikasi, isolat B2 memiliki kemiripan dengan genera *Enterobacter* sp. Hasil uji biokimia yang didapatkan didukung hasil penelitian yang dilakukan oleh Mailissa dkk. (2022) yang menyatakan bahwa *Enterobacter* sp. menunjukkan hasil indol negatif, MR negatif, dan VP negatif.

Pada media *Salmonella-Shigella Agar*, diperoleh tiga isolat dengan masing-masing kode C1, C2, dan C3. Isolat C1 dan C2 mampu menghasilkan gas hidrogen sulfida ( $H_2S$ ) sehingga menghasilkan warna hitam dan menimbulkan bau (Apriani dkk., 2019). Kedua isolat ini merupakan bakteri Gram negatif, sel berbentuk batang, motil, positif indol, negatif MR, positif VP, dan positif sitrat. Hasil uji biokimia tersebut sesuai dengan hasil penelitian Dai *et al.* (2018) yang menunjukkan bahwa genera *Proteus* sp. mampu memproduksi gas hidrogen sulfida, indol positif, dan sitrat positif. Sementara itu, isolat C3 berbentuk kokus, Gram negatif, dan tidak menghasilkan gas hidrogen sulfida ( $H_2S$ ). Isolat C3 tidak bersifat motil serta mampu memecah  $H_2O_2$ . Berdasarkan hasil penelitian Warsidah *et al.* (2021) karakteristik biokimia isolat C3 serupa dengan genera *Neisseria* sp. karena merupakan bakteri kokus negatif, tidak memproduksi gas hidrogen sulfida, serta mampu memecah  $H_2O_2$ . Meskipun bukan penyebab penyakit bawaan makanan, keberadaan genera *Neisseria* dapat ditemukan pada kotoran sapi, ayam, dan babi (Kim *et al.*, 2021). *Neisseria*, khususnya *N. gonorrhoeae* dan *N. meningitidis* menimbulkan ancaman kesehatan karena patogenitasnya dan tingkat resistensinya terhadap antibiotik. *N. gonorrhoeae* menyebabkan infeksi pada permukaan mukosa, nasofaring, uretra, dan rektum, sedangkan *N. meningitidis* dapat menimbulkan gejala pada orofaring maupun nasofaring (Barth *et al.*, 2009).

## Rekomendasi

Berdasarkan temuan bakteri patogen yang dapat menimbulkan berbagai masalah kesehatan seperti diare, infeksi saluran kemih, dan infeksi saluran pernafasan, perlu dilakukan peningkatan keamanan pangan. Tempat pemotongan hewan harus menjaga sanitasi lingkungan untuk mengendalikan kontaminasi mikroba dan meningkatkan kualitas daging. Penjual maupun pembeli juga perlu mengelola daging dengan benar agar mencegah masuknya mikroorganisme patogen ke dalam daging. Sementara itu, temuan patogen perlu dianalisis resistensinya terhadap antimikroba untuk melihat potensi risiko kesehatan yang ditimbulkan beserta strategi penanganan dan pencegahannya. Penggunaan metode molekuler juga dapat dilakukan untuk proses deteksi yang cepat dan akurat.

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daging sapi yang diperoleh dari pasar tradisional di Kota Bandung mengandung berbagai jenis bakteri patogen. Melalui serangkaian uji biokimia berupa uji IMViC, uji katalase, dan uji motilitas, didapatkan lima jenis bakteri patogen yang berhasil diidentifikasi, yaitu *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., dan *Neisseria* sp. Keberadaan bakteri-bakteri ini menunjukkan potensi risiko kesehatan bagi konsumen jika daging tersebut tidak ditangani atau dimasak dengan benar. Temuan ini menegaskan pentingnya praktik kebersihan yang ketat dan pengawasan yang lebih baik dalam penanganan, penyimpanan, dan penjualan daging sapi di pasar tradisional.

## DAFTAR PUSTAKA

- Apriani, L., Rahmawati, & Kurniatuhadi, R. (2019). Deteksi Bakteri *Salmonella* dan *Shigella* pada Makanan Burger di Sungai Raya Dalam Pontianak. *Protobiont*, 8(3), 53–57.
- Barth, K. R., Isabella, V. M., & Clark, V. L. (2009). Biochemical and genomic analysis of the denitrification pathway within the genus *Neisseria*. *Microbiology*, 155(12), 4093–4103. <https://doi.org/10.1099/mic.0.032961-0>
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual*.
- Damayanti, S., Komala, O., & Effendi, E. (2018). Identifikasi bakteri dari pupuk organik cair isi rumen sapi. *Ekologia : Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar Dan Lingkungan Hidup*, 18(2), 63–71.

- Detha, A., Datta, F., Beribe, E., Foeh, N., & Ndaong, N. (2019). Karakteristik Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Susu Kuda Sumba. *Jurnal Kajian Veteriner*, 7(1), 85–92. <http://ejurnal.undana.ac.id/index.php/JKV/article/view/1058/881>
- Ethica, S. N., Semiarti, E., Widada, J., Oedjijono, O., & Raharjo, T. J. (2017). Characterization of moaC and a nontarget gene fragments of food-borne pathogen *Alcaligenes* sp. JG3 using degenerate colony and arbitrary PCRs. *Journal of Food Safety*, 37(4), e12345. <https://doi.org/10.1111/jfs.12345>
- Hamidah, M., Rianingsih, L., & Romadhon. (2019). Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat dari Peda Dengan Jenis Ikan Berbeda terhadap *E. coli* dan *S. aureus* | Hamidah | Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 1(2), 11–21. <https://ejournal2.undip.ac.id/index.php/jitpi/article/view/6742/3551>
- Hamilton, A. L., Kamm, M. A., Ng, S. C., & Morrison, M. (2018). *Proteus* spp. as putative gastrointestinal pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(3).
- Haryati, K. (2020). Pengujian Kualitas Mikrobiologi Ikan Ekor Kuning Asap dari Pasar Youtefa Papua. *JPHPI*, 23(3), 486–494.
- Indriyani, P. D., Tyasningsih, W., Praja, R. N., Profesi, P., Hewan, D., & Veteriner, D. M. (2019). Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* pada Daging Sapi di Rumah Potong Hewan Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(2), 83–88. <https://doi.org/10.20473/JMV.VOL2.ISS2.2019.83-88>
- Iglewski, B. H. (1996). *Pseudomonas*. In S. Baron (Ed.), *Medical Microbiology* (4th ed., Ch. 27). University of Texas Medical Branch at Galveston. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8326/>
- Jain, A., Jain, R., & Jain, S. (2020). *Basic Techniques in Biochemistry, Microbiology and Molecular Biology: Principles and Techniques*. Humana Press.
- Kebede, M. T., & Getu, A. A. (2023). Assessment of bacteriological quality and safety of raw meat at slaughterhouse and butchers' shop (retail outlets) in Assosa Town, Beneshangul Gumuz Regional State, Western Ethiopia. *BMC Microbiology*, 23, Article 403.
- Kim, H., Cho, J. H., Song, M., Cho, J. H., Kim, S., Kim, E. S., Keum, G. B., Kim, H. B., & Lee, J.-H. (2021). Evaluating the prevalence of foodborne pathogens in livestock using metagenomics approach. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(12), 1701–1708. <https://doi.org/10.4014/jmb.2109.09038>
- Mailissa, M., Budiarto, T., & Amarantini, C. (2022). Screening Bakteri Coliform pada Air Minum Isis Ulang di Damiu, Kec. Umbulharjo Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional Biologi X FMIPA Universitas Negeri Semarang*, 212–219.
- Maiyena, S., & Mawarnis, E. (2022). Kajian Analisis Konsumsi Daging Sapi dan Daging Babi Ditinjau dari Kesehatan. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 6(1), 3131–3136. <https://jptam.org/index.php/jptam/article/view/3359/2858>

- Mulyani, P., Albab, M., & Purwestri, Y. (2021). Characterization of Lignocellulolytic Bacteria from Gut of Termite (Isoptera: Rhinotermitidae and Termitidae). *Jurnal Biologi Tropis*, 21(2), 543–550.
- Naser, A., Al-Humam, A., & Fadlelmula, M. (2022). Monitoring of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and Staphylococci in Poultry Meat-Based Fast Food in Saudi Arabia. *Advances in Microbiology*, 12, 159–176. <https://doi.org/10.4236/aim.2022.123013>
- Nicolaidou, V., Nicolaou, P., & Nicolaou, A. (2019). Transforming a cookbook undergraduate microbiology laboratory to inquirybased using a semester-long PBL case study. *Advances in Physiology Education*, 43.
- Pertiwi, K., Wulandari, K., Rodja, H., Urjiyah, U., Fibriani, E., & Putri, F. (2021). Teknik Diagnostik Konvensional dan Lanjutan untuk Infeksi Bakteri dan Resistensi Antibakteri di Indonesia. *Widya Biologi*, 12(2), 98–116.
- Rahmatullah, W. (2021). An Air Bacteria Identification by Using Gram Staining: *Jurnal Ilmu Kesehatan Bhakti Setya Medika*, 6(2), 83–91. <http://www.jurnal.poltekkes-bsti.ac.id/index.php/bsm/article/view/62>
- Ribah, M. I., Manga, S. S., Muftau, M. A., Bello, S., & Anlade, Y. D. R. (2023). Bacterial contamination of raw beef, mutton and chevon from major slaughter slabs in Kebbi State, Nigeria. *International Journal of Food Nutrition and Safety*, 14(1), 18-32. Florida, USA: International Journal of Food Nutrition and Safety.
- Rifai, K. (2021). Uji Indole sebagai Kegiatan Penjaminan Mutu Tambahan pada Hasil Pengujian Coliform dalam Sampel Air Mineral. *Jurnal Teknologi Proses Dan Inovasi Industri*, 6(1), 1–6.
- Rizi, K. S., Ghazvini, K., & Farsiani, H. (2019). Clinical and pathogenesis overview of Enterobacter infections. *Reviews in Clinical Medicine*, 6(4), 146-154.
- Safitri, E., Hidayati, N. A., & Hertati, R. (2019). Prevalensi Bakteri *Salmonella* pada Ayam Potong yang Dijual di Pasar Tradisional Pangkalpinang. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi Dan Mikrobiologi*, 4(1), 25–30. <https://journal.ubb.ac.id/index.php/ekotonia/article/view/1012/773>
- Safrida, Y., & Thaharah. (2020). Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* pada Es Kristal di Rumah Makan Kecamatan Baiturrahman - Banda Aceh. *Jurnal Serambi Engineering*, 5(3), 1137–1145. <https://ojs.serambimekkah.ac.id/jse/article/view/2077>
- Saimin, J., Hartati, Purnamasari, Y., Mulyawati, S., Tien, & Aritrina, P. (2020). Microbiological and Biochemical Contamination Analysis of Refilled Drinking-water in Abeli, Kendari, Southeast Sulawesi. *The Indonesian Biomedical Journal*, 12(2), 124–129.
- Sarmah, P., Dan, M. M., Adapa, D., & Tk, S. (2018). A Review on Common Pathogenic Microorganisms. *Human Health Article in Electronic Journal of Biology*, 14(1), 50–58. <https://www.researchgate.net/publication/324603657>

- Setiawati, U., Miranda, M., Lestari, M., Nukmal, N., Setyaningrum, E., Aeny, T., & Arifiyanto, A. (2022). Penapisan Enzim Hidrolasepada Bakteri *Streptomyces* sp. strain I18. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 7(3), 207–214.
- Shanmugaraj, C., Anokhe, A., & Kalia, V. (2021). Determination of Fermentation Pathway by Methyl Red and Voges Proskauer (MRVP) Test. *AgriCos E-Newsletter*, 2(11), 41–43.
- Supriyatin, H. P., Akademi, A., Kesehatan, A. N., Cirebon, J., & Barat, I. (2020). Kajian Kualitas Kimia Daging Sapi Tenderloin dan Sirloin di RPH Tradisional di Kabupaten Cirebon. *Jurnal Health Sains*, 1(3), 169–177. <https://doi.org/10.46799/JHS.V1I3.25>
- Ulfiani, F., Darmawi, D., Maisyaroh, S., & Darmawan, D. (2022). Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp. pada Daging Sapi yang Dijual di Pasar Blang Pulo Meulaboh Aceh Barat. *Jurnal Mahasiswa Kesehatan Masyarakat (Jurmakemas)*, 2(2), 308–322. <http://jurnal.utu.ac.id/JURMAKEMAS/article/view/5804>
- Warsidah, Rizky, Sofiana, M., Safitri, I., Minsas, S., Trianasta, M., & Sumanti, S. (2021). Biodiversity of Symbiotic Microorganisms of *Caulerpa racemosa* from Lemukutan Island, Indonesia and Its Antibacterial Activity. *International Conference on Science and Engineering (ICSE-UIN-SUKA 2021)*, 46–52.
- Warmate, D & Onarinde, B.A. (2023). Food safety incidents in the red meat industry: A review of foodborne disease outbreaks linked to the consumption of red meat and its products, 1991 to 2021. *International Journal of Food Microbiology*, 398, 110240.
- World Health Organization. (2015). WHO Estimates of The Global Burden of Foodborne Diseases: Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group 2007-2015. World Health Organization.