

## ANALISIS TOTAL MIKROBIA, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus* PADA PROSES PEMBUATAN TAHU GAMA YOGYAKARTA

Aan Sofyan<sup>1</sup>, Herni Purwantari<sup>2</sup>, Devi Yuni Susanti<sup>3</sup>, Yudi Pranoto<sup>4</sup>, Saiful Rochdiyanto<sup>5</sup> Endang Sutriswati Rahayu<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Surakarta  
email: aan.sofyan@ums.ac.id

<sup>2,3,4,5,6</sup>Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada

<sup>2</sup>email: herniptari@gmail.com <sup>3</sup>email: deyusa11@yahoo.com, <sup>4</sup>email: y\_prant@yahoo.com, <sup>5</sup>email: saiful\_ugm@yahoo.com, <sup>6</sup>email: endangsrahaya@yahoo.com

### Abstract

Tujuan penelitian ini yaitu untuk menganalisa jumlah total mikrobia, *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* pada proses produksi tahu GAMA Yogyakarta. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dengan menganalisis jumlah total mikrobia, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus* pada tiap tahapan proses pembuatan tahu yaitu dari mulai bahan kedelai mentah, air, bubur kedelai, bubur masak, sari kedelai, kecutan, dan gumpalan tahu. Hasil analisis terhadap jumlah total mikrobia pada tiap tahapan proses pembuatan tahu secara berturut-turut pada sampel kedelai, air, bubur kedelai, bubur masak, sari kedelai, kecutan, dan gumpalan tahu yaitu:  $2 \times 10^3$  CFU/ml;  $5 \times 10^2$  CFU/ml;  $1,4 \times 10^5$  CFU/ml;  $5,5 \times 10^3$  CFU/ml;  $1,5 \times 10^4$  CFU/ml;  $6,0 \times 10^2$  CFU/ml; dan  $1,3 \times 10^4$  CFU/ml. Sedangkan jumlah *Bacillus cereus* berturut-turut yaitu:  $< 10^2$  CFU/ml;  $< 10^2$  CFU/ml;  $3,9 \times 10^2$  CFU/ml;  $9,1 \times 10^2$  CFU/ml;  $3,4 \times 10^2$  CFU/ml;  $3,3 \times 10^2$  CFU/ml; dan  $3,9 \times 10^2$  CFU/ml. Hasil analisis terhadap jumlah *Staphylococcus aureus* pada tiap tahapan proses pembuatan tahu berturut-turut yaitu:  $10^3$  CFU/ml;  $2 \times 10^2$  CFU/ml;  $9,8 \times 10^4$  CFU/ml;  $4,0 \times 10^2$  CFU/ml;  $4,8 \times 10^4$  CFU/ml;  $7,0 \times 10^2$  CFU/ml; dan  $2,2 \times 10^3$  CFU/ml.

**Keywords:** tahu, *bacillus cereus*, *staphylococcus aureus*, total mikrobia

### 1. PENDAHULUAN

Tahu merupakan makanan yang lazim dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia. Hal ini dilakukan sebagai upaya pemenuhan gizi bagi sebagian masyarakat Indonesia. Selain harganya yang relatif terjangkau oleh masyarakat, tahu juga memiliki kandungan gizi yang bisa mensuplay kebutuhan protein bagi tubuh. Produsen tahu di Indonesia didominasi pengusaha kecil dan menengah, diaman aspek hygiene dan sanitasi dalam kegiatan produksi sangat kurang diperhatikan. Penerapan prinsip hygiene dan sanitasi pada proses produksi makanan mutlak harus dilakukan agar dapat dihasilkan produk pangan yang mempunyai kualitas yang baik. Salah satu ciri produk tahu yang mempunyai kualitas baik yaitu mempunyai

jumlah kandungan mikrobia yang patogen yang dapat ditolerir oleh tubuh.

Tahu merupakan bagian masakan tradisional di Asia Timur dan makanan vegetarian di seluruh dunia. Proses pembuatan tahu dimulai dari perendaman kedelai dengan air, pemasakan kedelai, penyaringan hingga menghasilkan sari kedelai sebagai bahan dasar tahu. Sari kedelai dipanaskan hingga mencapai suhu  $90^0$  C selama lebih dari 10 menit. Kemudian suhu sari kedelai (soymilk) diturunkan atau didinginkan menjadi  $60-70^0$  C untuk penambahan koagulan dan di panaskan kembali pada suhu  $80^0$  C untuk pengentalan (gelasi) (Liu et al, 2013).

Tahu dengan kandungan air dan protein yang tinggi sangat potensial menjadi sumber pertumbuhan mikrobia patogen (*food borne*

*pathogen*). Tahu biasanya memiliki umur simpan yang pendek hanya 2 – 3 hari yang disimpan pada suhu 4<sup>o</sup> C. Oleh karena itu pemeliharaan sanitasi sangat diperlukan untuk mengurangi jumlah awal cemaran mikrobia dan mengurangi resiko munculnya bakteri patogen pada tahu (Qian, 2013).

Sebagai makanan kaya gizi maka tahu rentan untuk ditumbuhi mikrobia dan salah satunya yaitu genera *Bacillus*. Sebagai mikrobia patogen. *Bacillus cereus* juga sebagai kontaminan pangan seperti produk susu, daging, makanan bayi, beras, sayuran, bumbu-bumbu dan sereal (McKilip, 2000). Bakteri patogen pembentuk spora seperti *Clostridium perfringens*, *C. botulinum* dan *Bacillus cereus* ditemukan pada buah-buahan dan sayuran mentah (Nguyen-the dan Carlin, 2000) dan asal mikrobia tersebut setelah ditelusuri dari tanah di mana sayuran ditanam (Guinebretière dan Nguyen-The, 2003). Sebagai contoh *B. cereus* ditemukan pada 100% dari sampel cabai merah mentah dengan jumlah antara 0,01-2,5 CFU /g (Guinebretière et al., 2003) dan 0-100% dari berbagai sayuran mentah dengan level antara 1-8.000 CFU/g (Valero et al., 2002).

Mikroorganisme penyebab kerusakan pada bahan pangan berkadar air tinggi dengan pH netral terutama berasal dari golongan bakteri. Bakteri pembusuk yang menyebabkan kerusakan pada tahu seperti *Pseudomonas* spp, *Coliform*, *Bacillus* spp, *Klebsiella* spp, *Leuconostoc* spp dan *Staphylococcus* spp telah banyak diutarakan dalam berbagai hasil penelitian (Serrazanetti dkk, 2013).

Bakteri yang ditemukan pada tahu biasanya berasal dari bahan baku, tenaga pengolah dan proses pengolahan tahu. Pada pembuatan susu kedelai sebelum dipadatkan menjadi tahu, terdapat beberapa titik kritis cemaran mikrobia pada tahap pengolahannya yaitu pada tahap penghilangan kulit, penggilingan, pemasakan, dan penyaringan. Pada tahap penghilangan kulit apabila tidak bersih dapat menyebabkan kontaminasi mikrobia dari kedelai. Pada tahap penggilingan dan pemasakan apabila perlakuan panas tidak adekuat maka inaktivasi bakteri tidak maksimal, dan pada tahap penyaringan apabila peralatannya tidak bersih akan

menyebabkan kontaminasi bakteri (Gandhi, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah total mikrobia, *Bacillus cereus*, dan *Staphylococcus aureus* pada setiap tahapan proses produksi tahu di produsen tahu Gama Yogyakarta,

## 2. METODE PENELITIAN

### Alat

Alat yang digunakan adalah *cool box*, konikal, oven, autoklaf, penangas air suhu 100°C, timbangan analit, *hot plate+stirrer*, *magnetic strirrer*, *laminair air flow (LAF) cabinet*, *stomacher*, *vorteks*, mikropipet dan tip biru, *Quebec Colony Counter*, inkubator, cawan petri *disposable* dan refrigerator, peralatan gelas antara lain: labu erlenmeyer 500 ml, 250 ml, cawan petri, tabung reaksi, pipet 1,5,10 dan 25 ml, dan labu ukur 250 ml.

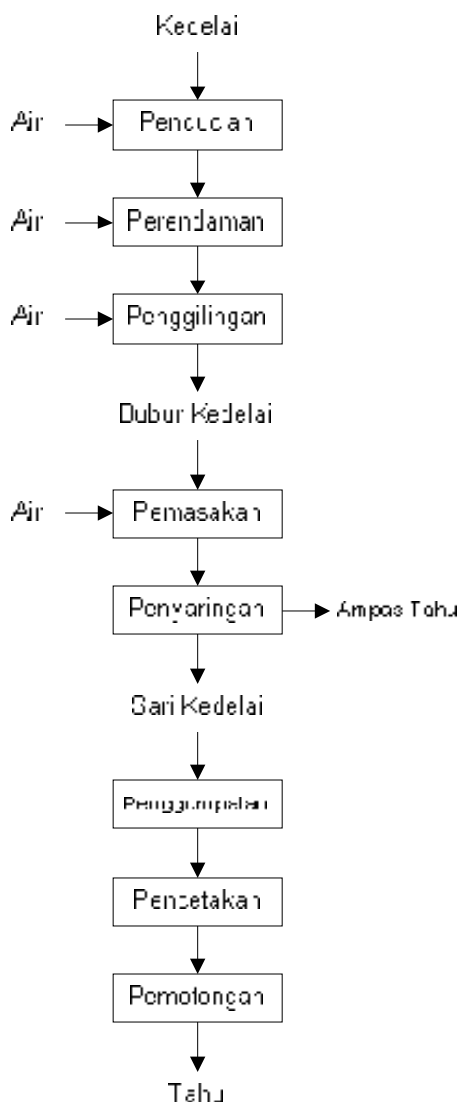
### Bahan

Bahan yang digunakan adalah sampel dari setiap tahapan proses pembuatan tahu dari mulai kedelai, air, bubur kedelai, bubur masak, sari kedelai, kecutan, dan gumpalan tahu. Sedangkan media analisis mikrobiologi yang digunakan yaitu media *Plate Count Agar (PCA)*, *Baird Pepton Agar Base (BPA)* dan *Natrium Chlorida, Bacillus Cereus Agar (BCA)*. Media suplemen yang digunakan adalah *egg yolk*, *egg yolk - tellurite* emulsion dan *polymixin B*. Bahan lain yang digunakan antara lain aquades, spritus dan alkohol.

### Metode pembuatan tahu

Mula-mula kedelai dicuci hingga bersih, kemudian dilakukan proses perendaman selama kurang lebih 2 jam. Setelah itu, kedelai kemudian digiling sampai diperoleh bubur kedelai. Selanjutnya bubur kedelai dimasak hingga mendidih dan kemudian dilakukan proses penyaringan sampai diperoleh sari kedelai. Sari kedelai kemudian ditampung dalam sebuah bak dan kemudian dilakukan penambahan agen penggumpal berupa kecutan.

Setelah terjadi proses penggumpalan selanjutnya dilakukan proses pengepresan sekaligus pencetakan tahu hingga diperoleh tahu dengan bentuk segi empat dengan ukuran kurang 5x5x2 cm.



Gambar 1. Diagram alir proses pembuatan tahu di Pabrik Tahu Gama

### Analisis Total Mikrobial

Metode analisis jumlah total mikrobial dengan menggunakan metode tuang (*pour plate*). Pada penelitian ini menggunakan seri pengenceran dari mulai  $10^{-1}$  –  $10^{-4}$ . Sebanyak 25g sampel dimasukkan ke dalam plastik steril yang kemudian ditambahkan 225 ml larutan

NaCl 0,89% steril. Dari hasil homogenisasi ini diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . Kemudian membuat satu seri pengenceran dengan 9 ml NaCl 0,89% steril, dan dari setiap pengenceran dipipet sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan dalam cawan petri. Tuangkanlah 15-20 ml media PCA dengan suhu  $\pm 45^{\circ}\text{C}$  di dalam cawan petri. Homogenkan secara perlahan-lahan, setelah media memadat semua cawan petri kemudian diinkubasi dengan posisi cawan petri terbalik pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam dan kemudian menghitung semua koloni yang tumbuh.

### Analisis Jumlah *Bacillus cereus*

Metode analisis jumlah *Bacillus cereus* dengan metode sebar (*spread plate*). Pada penelitian ini menggunakan seri pengenceran dari mulai  $10^{-1}$  –  $10^{-4}$ . Cawan petri yang sudah steril disiapkan terlebih dahulu. Kemudian menuangkan 15-20 ml media BCA+ Polymixin dan Kuning telur ke dalam cawan petri hingga memadat. Sebanyak 10 g sampel dimasukkan ke dalam plastik steril yang kemudian ditambahkan 90 ml larutan NaCl 0,89% steril, dari hasil homogenisasi sampel tersebut diperoleh pengenceran  $10^{-1}$ . Setiap pengenceran dipipet sebanyak 0,1 ml yang kemudian diteteskan ke atas cawan petri yang telah berisi media BCA. Larutan disebar hingga rata keseluruhan permukaan media menggunakan batang kaca bengkok. Semua cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam dan semua koloni yang tumbuh dihitung, dengan ciri-ciri koloni yang berwarna biru *tourquoise* dan dikelilingi daerah keruh.

### Analisis Jumlah *Staphylococcus aureus*

Metode analisis jumlah *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan metode sebar (*spread plate*). Pada penelitian ini menggunakan seri pengenceran dari mulai  $10^{-1}$  –  $10^{-4}$ . Cawan petri disiapkan terlebih dahulu dengan menuangkan 15 -20 ml media BPA+ egg yolk tellurite ke dalam cawan petri steril dan biarkan memadat. Sebanyak 25 g sampel dimasukkan ke dalam plastik steril yang kemudian ditambahkan 225 ml larutan NaCl 0,89% steril, dari hasil homogenisasi ini diperoleh

pengenceran  $10^{-1}$ . Buatlah satu seri pengenceran dengan 9 ml Natrium Chlorida 0,89%, dan dari setiap pengenceran dipipet sebanyak 0,1 ml yang kemudian teteskan pada cawan petri yang telah berisi media BPA. Larutan disebar hingga merata keseluruh permukaan media menggunakan batang kaca bengkok. Semua cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam dan semua koloni yang tumbuh dihitung, dengan ciri-ciri koloni yang berwarna abu-abu kehitaman, bulat dengan diameter 2-3mm, dan apabila dicuplik tampak seperti karet. Pada koloni *Staphylococcus aureus* terdapat zona jernih disekeliling koloni.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Analisis jumlah total mikrobia

Hasil analisis terhadap jumlah total mikrobia pada tiap tahapan proses pembuatan tahu Gama dapat dilihat pada Tabel 1. Pada Tabel 1. menunjukkan bahwa pada sampel kedelai, air, bubur kedelai, bubur masak, sari kedelai, kecutan, dan gumpalan tahu berturut-turut yaitu:  $2 \times 10^3$  CFU/ml;  $5 \times 10^2$  CFU/ml;  $1,4 \times 10^5$  CFU/ml;  $5,5 \times 10^3$  CFU/ml;  $1,5 \times 10^4$  CFU/ml;  $6,0 \times 10^2$  CFU/ml; dan  $1,3 \times 10^4$  CFU/ml.

#### Analisis jumlah *Bacillus cereus*

Hasil analisis terhadap jumlah *Bacillus cereus* pada tiap tahapan proses pembuatan tahu Gama dapat dilihat pada Tabel 2. Pada Tabel 2. menunjukkan bahwa pada sampel kedelai, air, bubur kedelai, bubur masak, sari kedelai, kecutan, dan gumpalan tahu berturut-turut yaitu:  $< 10^2$  CFU/ml;  $< 10^2$  CFU/ml;  $3,9 \times 10^2$  CFU/ml;  $9,1 \times 10^2$  CFU/ml;  $3,4 \times 10^2$  CFU/ml;  $3,3 \times 10^2$  CFU/ml; dan  $3,9 \times 10^2$  CFU/ml.

#### Analisis jumlah *Staphylococcus aureus*

Hasil analisis terhadap jumlah *Staphylococcus aureus* pada tiap tahapan proses pembuatan tahu Gama dapat dilihat pada Tabel 3. Pada Tabel 3. menunjukkan bahwa pada sampel kedelai, air, bubur kedelai, bubur masak, sari kedelai, kecutan, dan gumpalan

tahu berturut-turut yaitu:  $10^3$  CFU/ml;  $2 \times 10^2$  CFU/ml;  $9,8 \times 10^4$  CFU/ml;  $4,0 \times 10^2$  CFU/ml;  $4,8 \times 10^4$  CFU/ml;  $7,0 \times 10^2$  CFU/ml; dan  $2,2 \times 10^3$  CFU/ml.

Tabel 1. Analisis Jumlah Total Mikroba

Jenis Sampel	Jumlah Total Mikrobia
Kedelai	$2 \times 10^3$ CFU/ml
Air	$5 \times 10^2$ CFU/ml
Bubur Kedelai	$1,4 \times 10^5$ CFU/ml
Bubur Masak	$5,5 \times 10^3$ CFU/ml
Sari Kedelai	$1,5 \times 10^4$ CFU/ml
Kecutan	$6,0 \times 10^2$ CFU/ml
Gumpalan Tahu	$1,3 \times 10^4$ CFU/ml

Tabel 2. Analisis Jumlah *Bacillus cereus*

Jenis Sampel	Jumlah <i>Bacillus cereus</i>
Kedelai	$< 10^2$ CFU/ml
Air	$< 10^2$ CFU/ml
Bubur Kedelai	$3,9 \times 10^2$ CFU/ml
Bubur Masak	$9,1 \times 10^2$ CFU/ml
Sari Kedelai	$3,4 \times 10^2$ CFU/ml
Kecutan	$3,3 \times 10^2$ CFU/ml
Gumpalan Tahu	$3,9 \times 10^2$ CFU/ml

Tabel 3. Analisis Jumlah *Staphylococcus aureus*

Jenis Sampel	Jumlah <i>Staphylococcus aureus</i>
Kedelai	10 <sup>3</sup> CFU/ml
Air	2x10 <sup>2</sup> CFU/ml
Bubur Kedelai	9,8x10 <sup>4</sup> CFU/ml
Bubur Masak Sari	4,0x10 <sup>2</sup> CFU/ml
Kedelai Kecutan	4,8x10 <sup>4</sup> CFU/ml
Gumpalan Tahu	7,0x10 <sup>2</sup> CFU/ml
	2,2x10 <sup>3</sup> CFU/ml

Bakteri yang ditemukan dalam tahu biasanya dikarenakan pada proses pengolahannya terjadi kontaminasi. Sumber utama pencemaran bakteri pada tahu biasanya berasal dari bahan mentah, tanah dan air yang menjadi sumber utama dari bakteri yang dapat menyebabkan keracunan dan bakteri pembentuk spora seperti *Bacillus* sp. Lingkungan proses produksi dan karyawan atau pengolah makanan juga menjadi sumber dari kontaminasi bakteri. Kedelai sebagai bahan baku untuk pembuatan tahu, merupakan sumber pencemaran bakteri *Bacillus* dan bakteri pembentuk spora yang berasal dari tanah. *Bacillus cereus* dapat ditemukan pada berbagai jenis pangan, seperti beras, kentang dan pasta, daging dan hasil olahannya, susu dan hasil olahan susu, biji-bijian, bumbu, sayuran dan juga pada kacang-kacangan kering (Rajkovic, 2013). Kontaminasi kedelai dapat terjadi melalui tanah, dimana tanah merupakan habitat dari banyak mikroba diantaranya *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* sp.

Air sebagai bahan yang selalu terlibat pada setiap tahap proses pembuatan tahu, maka air berpeluang sebagai sumber kontaminasi oleh bakteri patogen yang berbahaya bagi konsumen apabila sanitasinya kurang baik. Air yang digunakan untuk proses pangan harus memiliki kualitas sebagai air bersih. Beberapa spesies bakteri yang umumnya terdapat di dalam air adalah *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Proteus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, dan jenis enterokokus diantaranya *Enterobakter*

dan *Escherichia* (Faizer dan Westhoff, 1978 dalam Budi, 2010).

*Food and Drug Administration* tahun 2013 juga mengeluarkan *Guidelines for The Assessment of Microbiological Quality of Processed Foods*, untuk kualitas tahu yang dipersyaratkan adalah bakteri *Bacillus cereus* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing koagulase positif 10<sup>-2</sup> CFU/g. Kisaran suhu untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* berkisar pada suhu 7- 48<sup>0</sup>C, sedangkan untuk suhu optimumnya berada pada kisaran 35-40<sup>0</sup>C. Waktu pembelahan *Staphylococcus aureus* dalam bahan makanan yang disimpan pada suhu 35-40<sup>0</sup> C dapat berlangsung singkat yaitu dalam waktu sekitar 20 menit (Baired-Parker, 2000). Populasi *Staphylococcus aureus* yang diperlukan untuk menghasilkan toksin adalah 5 x 10<sup>6</sup> CFU/g, dimana toksin yang dihasilkan bersifat tahan panas. Oleh karena itu, walaupun bakterinya sudah mati karena pemanasan kemungkinan toksinnya masih tetap dapat bertahan (Han, dkk., 2005).

Bahan penggumpal yang umum digunakan oleh industri rumah tangga adalah kecutan atau biang tahu sebagai bahan penggumpalan, kecutan merupakan cairan bening yang berwarna kekuningan yang berasal dari proses pembuatan tahu sebelumnya. Kecutan yang disimpan selama semalam, memiliki keasaman yang tinggi biasanya memiliki kisaran pH antara 3 -4, hal ini dikarenakan terbentuk asam-asam organik oleh aktivitas mikroba yang ada dalam kecutan (Rahayu, 2012).

Kecutan memiliki suhu sekitar 60-70<sup>0</sup>C. Suhu ini akan turun perlahan-lahan hingga mencapai 30<sup>0</sup> C setelah 14-15 jam. Dengan whey yang bersuhu tinggi maka diperkirakan bakteri-bakteri yang mampu bertahan adalah genera *Bacillus*, *Lactobacillus* dan *Streptococcus* (Hikam, 2009).

#### 4. SIMPULAN

Kontaminasi mikrobial pada proses pembuatan tahu berasal dari berbagai sumber terutama berasal dari bahan mentah, tanah dan air. Selain itu lingkungan proses produksi dan karyawan atau pengolah makanan juga menjadi sumber dari kontaminasi bakteri. Oleh karena

itu sebagai saran perlu dilakukan perbaikan dalam proses produksi tahu.

## 5. REFERENSI

- Baird-Parker, T.C. (2000). *Staphylococcus aureus*. Dalam: Lund, B.M., Baird-Pareker, T. C. and Gould, G. W. (ed). *The Micobiological Safety and Quality of Food. Volume II. Hal 1317-1331. Aspen Publishers, Inc. Maryland.*
- Gandhi, A. P. 2009. *Application of HACCP Protocols for the Production of Soy milk. Internet Journal of Food Safety 11 : 67-80.*
- Guinebretière, M. H., & Nguyen The, C. 2003. *Sources of Bacillus cereus contamination in a pasteurised zucchini puree processing plant, differentiated by two PCR-based methods. FEMS Microbiology Ecology, 43: 207-215.*
- Han, B. Z., Sesenna, B., Rijkelit, R. B. dan Nout, R.M. (2005). *Behaviour of Staphylococcus aureus during tofu production at laboratory scale. Food Control 16: 243-247.*
- Rahayu, E.S., Rahayu, S., Sidar, A., Purwadi, T. dan Rochdyanto, S. 2012. *Teknologi Proses Produksi Tahu. Penerbit Kanisius. Yogyakarta*
- Rajkovic, A., Kljajic, M., Smigic, N. , Devlieghere, F. dan Uyttendale, M. (2013). *Toxin producing Bacillus cereus persist in ready-to-reheat spaghetti Bolognese mainly in vegetative state. International Journal of Food Microbiology. 167: 236-243*
- Liu, K. (1997). *Effects of coagulants on storage of packed tofu. Maryland: Springer.*
- McKillip, J.L. 2000. *Prevalence and expression of enterotoxins in Bacillus cereus and other Bacillus spp., a literature review. Antonie van Leeuwenhoek 77: 393–399.*
- Nguyen-The,C, 2012. *Biological hazards in processed fruits and vegetables e Risk factors and impact of processing techniques LWT - Food Science and Technology 49: 172-177*
- Qian Jia, Meixu Gao, Shurong Li, Zhidong Wang. (2013). *Effects of gamma and electron beam irradiation on the microbial quality of steamed tofu rolls. Maryland: Springer.*
- Serrazanetti, D.I., Ndagijimana, M., Miserocchi, C. dan Guezoni, M.E. 2013. *Fermented tofu: Enhancement of keeping quality and sensorial properties. Food Control 34:336-346.*
- Valero, M., Hernández-Herrero, L. A., Fernández, P. S., and Salmerón, M. C. 2002. *Characterization of Bacillus cereus isolates from fresh vegetables and refrigerated minimally processed foods by biochemical and physiological tests. Food Microbiology, 19(5): 491-499.*