BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kualitas Makanan

Bahan pangan merupakan jalur utama penyebaran patogen dan toxin yang diproduksi oleh mikroba patogen. Bahan pangan juga dapat mengandung racun akibat proses pembusukan atau pencampuran bahan kimia yang berbahaya yang dapat menyebabkan kesakitan dan keracunan. Pada umumnya, keracunan pangan atau makanan terjadi pada suatu keadaan dimana orang secara bersamaan atau hampir bersamaan terpapar dengan jenis makanan atau minuman tertentu yang menyebabkan keracunan (Hakim, 2012).

Makanan mungkin sekali menjadi penyebab terjadinya gangguan dalam tubuh kita sehingga kita jatuh sakit. Banyak sekali hal yang dapat menyebabkan suatu makanan menjadi tidak aman. Salah satu di antaranya dikarenakan terkontaminasi. Kemungkinan makanan dapat terkontaminasi oleh bakteri patogen sehingga dapat menyebabkan penyakit. Makanan yang terkontaminasi dapat menimbulkan gejala penyakit baik infeksi maupun keracunan. Kontaminasi makanan adalah terdapatnya bahan atau organisme berbahaya dalam makanan secara tidak sengaja. Bahan atau organisme berbahaya disebut kontaminan (Hakim, 2012).

Adanya mikroba di dalam makanan dan minuman tersebut tidak diinginkan karena akan menyebabkan perubahan organoleptik sediaan, apalagi jika makanan dan minuman tersebut akan masuk ke dalam tubuh. Baik mikroba

patogen maupun non-patogen bila terdapat dalam jumlah yang banyak akan sangat berbahaya bagi tubuh. Demikian pula dengan makanan atau minuman yang berasal dari bahan alami, kemungkinan pencemarannya dapat ditimbulkan pada waktu pengolahan melalui tangan, atau peralatan yang tidak steril, atau melalui bahan mentah. Oleh karena itu, kualitas mikrobiologis dari makanan dan minuman merupakan suatu masalah yang penting dan sangat perlu diperhatikan (Jamhari, 2018).

Makanan harus dikelola dengan baik dan benar agar tidak menyebabkan gangguan kesehatan dan bermanfaat bagi tubuh. Cara pengelolaan makanan yang baik yaitu dengan menerapkan prinsip hygiene dan sanitasi makanan (Permenkes No.3 Tahun 2014 tentang Sanitasi Total Berbasis Masyarakat). Prinsip hygiene sanitasi makanan:

1. Pemilihan bahan makanan

Pemilihan bahan makanan harus memperhatikan mutu dan kualitas serta memenuhi persyaratan yaitu untuk bahan makanan tidak dikemas; harus dalam keadaan segar, tidak busuk, tidak rusak atau berjamur, tidak mengandung bahan kimia berbahaya dan beracun serta berasal dari sumber yang resmi atau jelas. Untuk bahan makanan dalam kemasan atau hasil pabrikan; mempunyai label dan merek, komposisi jelas, terdaftar dan tidak kadaluwarsa. Pemeriksaan kualitas bahan makanan perlu dilakukan untuk setiap kategori bahan makanan, guna mengetahui tanda-tanda kontaminasi mikroorganisme, bahan kimia yang berbahaya yang disebabkan oleh sisa-sisa pestisida atau infestasi serangga.

2. Penyimpanan bahan makanan

Menyimpan bahan makanan baik bahan makanan tidak dikemas maupun dalam kemasan harus memperhatikan tempat penyimpanan, cara penyimpanan, waktu atau lama penyimpanan dan suhu penyimpanan. Selama berada dalam penyimpanan harus terhindar dari kemungkinan terjadinya kontaminasi oleh bakteri, serangga, tikus dan hewan lainnya serta bahan kimia berbahaya dan beracun. Bahan makanan yang disimpan lebih dahulu atau masa kadaluwarsanya lebih awal dimanfaatkan terlebih dahulu.

3. Pengolahan makanan

Empat aspek hygiene sanitasi makanan sangat memengaruhi proses pengolahan makanan, oleh karena itu harus memenuhi persyaratan, yaitu:

a) Tempat pengolahan makanan atau dapur harus memenuhi persyaratan teknis hygiene sanitasi untuk mencegah risiko pencemaran terhadap makanan serta dapat mencegah masuknya serangga, binatang pengerat, vektor dan hewan lainnya.
b) Peralatan yang digunakan harus tara pangan (food grade) yaitu aman dan tidak berbahaya bagi kesehatan (lapisan permukaan peralatan tidak larut dalam suasana asam/basa dan tidak mengeluarkan bahan berbahaya dan beracun) serta peralatan harus utuh, tidak cacat, tidak retak, tidak gompel dan mudah dibersihkan.
c) Bahan makanan memenuhi persyaratan dan diolah sesuai urutan prioritas perlakukan makanan hasil olahan sesuai persyaratan higiene dan sanitasi makanan, bebas cemaran fisik, kimia dan bakteriologis.

d) Penjamah makanan/pengolah makanan berbadan sehat, tidak menderita penyakit menular dan berperilaku hidup bersih dan sehat.

4. Penyimpanan makanan matang

Penyimpanan makanan yang telah matang harus memperhatikan suhu, pewadahan, tempat penyimpanan dan lama penyimpanan. Penyimpanan pada suhu yang tepat baik suhu dingin, sangat dingin, beku maupun suhu hangat serta lama penyimpanan sangat memengaruhi kondisi dan cita rasa makanan matang. Tempat penyimpanan merupakan ruangan tertutup yang terlindung dari debu yang digunakan hanya untuk menyimpan bahan makanan.

5. Pengangkutan makanan

Dalam pengangkutan baik bahan makanan maupun makanan matang harus memperhatikan beberapa hal yaitu alat angkut yang digunakan, teknik/carapengangkutan, lama pengangkutan dan petugas pengangkut. Hal ini untuk menghindari risiko terjadinya pencemaran baik fisik, kimia maupun bakteriologis.

6. Penyajian makanan

Kebiasaan-kebiasaan yang kurang baik dari penyaji seperti berbicara, menyentuh bagian tubuh, bersin, dan mencicipi makanan menggunakan tangan masih sering terjadi. Kontaminasi dapat terjadi dari penyaji ke makanan padahal tahap ini merupakan tahap akhir sebelum makanan dibagikan ke pasien. Kontaminasi pada tahap ini akan berakibat terhadap pasien yang memakannya. Makanan yang terkontaminasi bila dimakan pasien akan memperburuk kondisi pasien yang dalam masa penyembuhan.Makanan dinyatakan layak santap

apabila telah dilakukan uji organoleptik atau uji biologis atau uji laboratorium, hal ini dilakukan bila ada kecurigaan terhadap makanan tersebut. Makanan yang sudah masak sebelum disajikan dilakukan uji organoleptik untuk mengetahui tingkat kematangan dan rasa walaupun belum dilakukan untuk semua jenis makanan

Setiap makanan selalu mengalami proses penyediaan bahan mentah, pengolahan, penyimpanan dan distribusinya sampai di meja makan di setiap rumah tangga, pertemuan- pertemuan, pesta, makanan jajanan, restauran dan berbagai cara distribusi pangan. Semuanya mempunyai risiko terjadinya keracunan, baik keracunan karena pangan itu sendiri beracun atau adanya bahan racun yang mencemari makanan (Imari, 2011: 4)

B. Nasi Jinggo

Nasi Jinggo menjadi salah satu jenis kuliner yang tidak saja diminati oleh masyarakat lokal tapi juga oleh para wisatawan yang berkunjung ke Pulau Bali. Ciri khas Nasi Jinggo biasanya dibungkus daun pisang dan porsinya kecil. Selain karena rasanya yang lezat juga karena harganya yang murah dan terjangkau. Cita rasanya yang pedas dengan lauk yang sederhana terdiri dari mie goreng, ayam suir, tempe dan terkadang ada dadar telur atau telur rebus di dalamnya ditambah saur menambah kenikmatannya di kalangan para pencintanya. Awal kemunculannya di Kota Denpasar di era Tahun 1980 pertama kali dijual di Jalan Gajah Mada Denpasar yang notabene merupakan tempat pusat perekonomian yang beraktivitas selama 24 jam karena aktivitas Pasar Kumbasari dan Pasar Badung. Para pedagang yang memerlukan makanan

pengganjal perut dalam aktivitas mereka di malam hari inilah yang merupakan para konsumen nasi jinggo saat itu (Suryantari, 2019).

Gambar 1. Nasi Jinggo
(wijaya, 2020)

Asal mula nama nasi jinggo tidak ada yang tahu pasti namun ada beberapa versi yang menyebutkan diantaranya jinggo berasal dari bahasa *Hokkien* yang berarti "seribu lima ratus" yang merupakan harga pasaran nasi jinggo sebelum krisis moneter tahun 1997. Versi lain menyebutkan bahwa nama jinggo berasal dari judul film *Djanggo* yang populer pada masa itu sedangkan versi yang lain menyebutkan nama jinggo berasal dari kata "*jagoan*" yang merupakan para pengendara motor asli Bali yang mana nasi jinggo biasa mereka nikmati sehabis plesiran malam (Suryantari, 2019)

C. Angka Lempeng Total (ALT)

Metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan Angka Lempeng Total (ALT). Uji angka lempeng total dan lebih tepatnya ALT aerob mesofil atau anaerob mesofil menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (CFU) per

mL/gram atau koloni/100mL. Cara yang digunakan antara lain dengan cara tuang, cara tetes, dan cara sebar (Kuswiyanto 2016).

Prinsip dari ALT adalah menghitung pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel makanan ditanam pada lempeng media yang sesuai dengan cara tuang kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 35-37°C. Uji angka lempeng total merupakan metode yang umum digunakan untuk menghitung adanya bakteri yang terhadap dalam sediaan yang diperiksa (Sundari dan Fadhliani, 2019)

Angka lempeng total dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengenceran. Jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dapat dihitung dengan menggunakan mata tanpa mikroskop. Metode hitungan cawan merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik karena beberapa hal yaitu:

a. Hanya sel yang masih hidup yang dapat dihitung.
b. Beberapa jenis jasad renik dapat dihitung satu kali.
c. Dapat digunakan untuk isolasi dan identitas jasad renik karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari jasad renik yang menetap menampakkan pertumbuhan yang spesifik (Sundari dan Fadhliani, 2019)

Metode hitung cawan dapat dibedakan atas dua cara, yaitu metode tuang (pour plate) dan metode permukaan (surface/spread plate).

1. Metode sebar (spread plate)

Metode ini biasanya digunakan untuk memisahkan mikroorganisme yang terkandung dalam volume sampel kecil, sehingga menghasilkan pembentukan koloni diskrit yang didistribusikan secara merata di seluruh permukaan. Selain itu, dapat mempermudah menghitung jumlah koloni yang tumbuh (Sanders, 2012).

2. Metode tuang (pour plate)

Metode ini sering digunakan untuk menghitung jumlah mikroorganisme dalam sampel campuran, yang ditambahkan ke media agar cair sebelum media memadat. Proses ini menghasilkan koloni yang tersebar merata di seluruh medium padat (Sanders, 2012). Kelebihan dari penggunaan metode hitung cawan yaitu sensitif untuk menghitung jumlah mikroba dikarenakan hanya sel yang masih hidup yang dihitung, beberapa jenis mikroba dapat dihitung sekaligus, serta dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari mikroba yang mempunyai penampakan spesifik (Waluyo, 2016).

Menurut Kuswiyanto (2016), perhitungan dengan cara ini diperlukan beberapa syarat yang harus dipenuhi yaitu:

a) Cawan yang dipilih adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 koloni.
b) Hasil yang dialporkan terdiri dari 2 angka, yaitu angka pertama di depan koma dan angka kedua dibelakang koma. Jika angka ketiga lebih besar dari 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi dari angka kedua.

c) Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan angka kurang 30 koloni pada cawan petri, hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung. Hasil dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.

d) Jika semua pengenceran yang dibuat menghasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, hanya koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih besar dari 300 dikalikan dengan besarnya pengenceran, jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.

e) Jika semua pengenceran menghasilkan angka 30-300 koloni, harus dibuat perbandingan. Jika perbandingannya < 2, yang dilaporkan adalah rata-rata pengenceran. Akan tetapi, jika perbandingannya > 2, yang dilaporkan adalah pengenceran terendah. Jika menggunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut meskipun salah satu dari cawan duplo tidak memenuhi syarat 30-300 koloni.

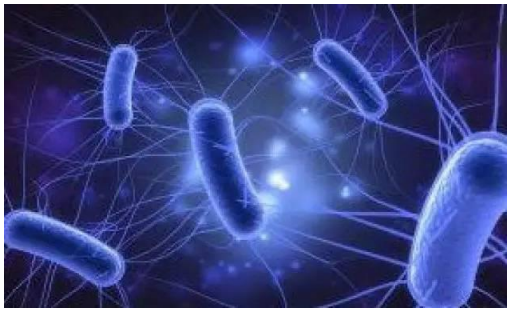
Keuntungan dan Kelemahan dari angka lempeng total (ALT). Keuntungan dari metode pertumbuhan agar atau metode uji angka lempeng total adalah dapat mengetahui jumlah mikroba yang dominan. Keuntungan lainnya dapat diketahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam sampel. Adapun kelemahan dari metode ini adalah :

1) Kemungkinan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel mikroba, seperti pada mikroba yang berpasangan, rantai atau kelompok sel.

2) Kemungkinan ini akan memperkecil jumlah sel mikroba yang sebenarnya. Kemungkinan ada jenis mikroba yang tidak dapat tumbuh karena penggunaan jenis media agar, suhu, pH, atau kandungan oksigen selama masa inkubasi.
3) Kemungkinan ada jenis mikroba tertentu yang tumbuh menyebar di seluruh permukaan media agar sehingga menghalangi mikroba lain. Hal ini akan mengakibatkan mikroba lain tersebut tidak terhitung.
4) Penghitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikroba antara 30-300 koloni. Bila jumlah populasi kurang dari 30 koloni akan menghasilkan peng-hitungan yang kurang teliti secara statistic, namun bila lebih dari 300 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan diantara koloni (Sundari, 2019)

D. Escherihcia coli

1. Pngertian bakteri *Eschericia coli*



Gambar 2: Bakteri *Escherichia coli*
(Samhis setiawan, 2020)

Enterobacter adalah mikroorganisme yang hidup di usus besar manusia, hewan, tanah, air dan dapat pula ditemukan pada komposisi material (feses, urin). Sebagian mikroorganisme enterik ini tidak menimbulkan penyakit pada

host (tuan rumah) bila mikroorganisme tetap berada di dalam usus besar. Banyak diantara genus mikroorganisme ini mampu menimbulkan penyakit pada tiap jaringan tubuh manusia. Penyakit-penyakit yang dapat ditimbulkan oleh *Enterobacter* sangat beragam, mulai dari diare, gastroenteritis, peritonitis, infeksi saluran nafas, infeksi saluran kemih, bahkan penyakit autism. Genus *Escherichia* merupakan bagian dari *Escherichiae* yang termasuk pada famili *Enterobacteriaceae* dan pertama kali diisolasi pada tahun 1885 oleh seorang bakteriologis asal Jerman bernama Theodor Escherich (Suntiknowati, 2016)

2. Toksonomi bakteri *Escheriachia coli*

Adpun toksonomi dari bakteri *Escheiachia coli* yaitu:

Domain	: Bacteria
Kingdom	: Eubacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gammaproteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Species	: Escherichia coli

3. Morfologi

Bakteri *Escherichia coli* ditemukan pada tahun 1885 oleh Theodor Escherich dan diberi nama sesuai dengan nama penemunya. *Escherichia coli* merupakan bakteri berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 micrometer dan

diamater 0.5 micrometer. Volume sel *Escherichia coli* berkisar 0.6-0.7 m^3 . Bakteri ini dapat hidup pada rentang suhu 20-40^0 C dengan suhu optimumnya pada 37^0 C dan tergolong bakteri gram negatif (Suntiknowati, 2016)

4. Patogenesis

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri koliform fekal, yang menjadi indikator pencemaran oleh tinja manusia atau hewan pada air, karena *Escherichia coli* merupakan bakteri yang biasa hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan. *Escherichia coli* juga memiliki sifat-sifat tertentu yang menyebabkan bila ada *Escherichia coli* pada air mengakibatkan kemungkinan juga terdapat bakteri patogen lain penyebab penyakit. Salah satu sifat tersebut adalah bakteri ini dapat tahan terhadap suhu, bahkan suhu ekstrem. Salah satu bakteri penyebab diare adalah bakteri *Escherichia coli*. Namun tidak semua bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan diare. Hanya bakteri tertentu saja seperti misalnya *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC) (Suntiknowati, 2016).

Escherichia coli dapat hidup dalam berbagi tempat dan kondisi termasuk pada makanan. Air yang tercemar oleh bakteri *Escherichia coli* ini tidak dapat digunakan untuk keperluan pengelolaan makanan seperti memasak, mencuci peralatan makan, dan mencuci bahan makanan. Hal ini memungkinan berpindahnya *Escherichia coli* dari air ke makanan. Makanan yang mengandung *Escherichia coli* ini tidak layak untuk dikonsumsi. Kontaminasi pada makanan oleh bakteri *Escherichia coli* terutama dapat disebabkan oleh kondisi higiene dan sanitasi yang kurang pada tempat pengeloaan makanan. Peluang terjadinya kontaminasi makanan dapat terjadi pada setiap tahap

pengolahan makanan. Pengelolaan makanan yang tidak higienis dapat mengakibatkan adanya bahan-bahan di dalam makanan yang dapat menimbulkan gangguan kesehatan pada konsumen

Escherichia coli sebagai salah satu indikator terjadinya pencemaran makanan yang dapat menyebabkan penyakit akibat makanan (*food borne diseases*). Bakteri-bakteri indikator pada umumnya adalah bakteri lazim terdapat dan hidup sebagai flora normal pada usus manusia. Bakteri *Escherichia coli* dapat menimbulkan gangguan kesehatan seperti penyakit diare apabila masuk ke saluran pencernaan, baik melalui minuman maupun makanan. Peraturan Menteri Kesehatan RI nomor 1098/Menkes/PER/VI/2011 makanan jadi harus memenuhi persyaratan bakteriologi angka kuman *E.coli* pada makanan harus 0/gram sampel makanan dan pada minuman angka kuman *E.coli* harus 0/100 ml sampel minuman.

5. Mekanisme Ptogenesis

a) *Enterotoksigenik E. coli* (ETEC)

Enterotoksigenik E. coli merupakan penyebab diare tidak hanya pada manusia tetapi juga pada hewan. Setelah masuk ke dalam sistem pencernaan, ETEC akan menempel pada sel-sel yang melapisi mukosa usus kecil melalui interaksi yang dimediasi oleh faktor kolonisasi (*colonization factor* = CFs). Setelah itu, ETEC akan memproduksi enterotoksin. Faktor kolonisasi ini menggambarkan tiga tipe fimbriae berbeda dan sangat penting untuk proses penempelan pada permukaan mukosa usus kecil. Disamping itu, faktor kolonisasi yang berbeda ini bervariasi jumlahnya untuk setiap populasi dan

beberapa kombinasi faktor menyebabkan peningkatan virulensi. Faktor kolonisasi pada ETEC telah diketahui ada sekitar 25 jenis.

b) *Enteropatogenik E. coli* (EPEC)

Enteropatogenik E. coli (EPEC) merupakan penyebab diare yang umumnya terjadi di negara-negara berkembang. *Enteropatogenik E. coli* menyebabkan diare yang cukup parah pada bayi dan dapat berlangsung selama lebih dari 2 minggu serta menyebabkan kematian jika terjadi dehidrasi parah. Pada orang dewasa, penyakit ini ditandai dengan diare berat, mual, muntah, kram perut, sakit kepala, demam, dan menggigil. Waktu untuk timbulnya penyakit adalah 17 sampai 72 jam, durasi penyakit adalah 6 jam sampai 3 hari. EPEC dapat menyebabkan penyakit yang akan berkembang pada manusia ketika ditransmisikan oleh air yang terkontaminasi feses.

c) *Enterohemoragik E. coli* (EHEC)

Enterohemoragik E. coli merupakan kelompok *E. coli* yang dapat menyebabkan diare atau kolitis berdarah pada manusia yang dapat berujung pada sindrom hemolitik uremik (Hemolytic Uremic Syndrom/HUS). Escherichia coli O157:H7 telah diakui sebagai penyebab sindrom ini sejak Enterohemoragik E. coli ditransmisikan melalui rute fecal-oral. Pangan yang berasal dari hewan, seperti daging, produk susu yang tidak dipasteurisasi, atau sayuran yang telah terkontaminasi merupakan pembawa transmisi utama dari penyebaran EHEC ke manusia Mekanisme patogenesis intimin dari EHEC menyerupai dengan yang terjadi di EPEC. Bakteri EHEC juga memiliki kemampuan untuk menyebabkan luka pada usus dengan mengikis atau

menghancurkan mikrovili karena sama sama memiliki komponen genetik lokus.

d) *Enteroinvasif E. coli* (EIEC)

Enteroinvasif E. coli pertama kali diidentifikasi pada tahun 1944, yang awalnya disebut “paracolon bacillus”, tetapi hasil analisis lanjut menyatakan bakteri tersebut sebagai *Escherichia coli* O124. *Enteroinvasif E. coli* bersifat non-motil, tidak dapat memfermentasi laktosa, dan bersifat anaerogenik. Selain itu, patogenesis EIEC cukup berbeda jika dibandingkan dengan *E. coli* lainnya tetapi identik dengan shigellosis (yang disebabkan oleh *Shigella*) yaitu infeks disebabkan oleh penetrasi bakteri dan kerusakan mukosa usus. Studi filogenetik terbaru menunjukkan bahwa *Shigella* dan EIEC membentuk sifat umum dan karakteristik yang sama.

e) *Enteroagregatif E. coli* (EAEC)

Enteroagregatif E. coli pertama kali diidentifikasi pada tahun 1983 dan diketahui sebagai penyebab diare pada tahun 1987. *Enteroagregatif E. coli* merupakan jenis *E. coli* yang berkaitan erat dengan diare akut pada anak-anak serta penyebab dari kasus diare traveller kedua setelah ETEC. Selain itu, EAEC diketahui pula dapat menyebabkan inflamasi karena infeksi, namun mekanisme yang lebih rinci dari patogenesis EAEC masih terbatas. Dosis infektif EAEC bergantung pada jenis virulensi yang miliki oleh baktri tersebut. Kebanyakan orang yang terinfeksi EAEC akan mengalami diare yang disertai dengan darah serta lendir. Pada banyak kasus, diare akan berlangsung selama lebih dari 14

hari. Penularan EAEC umumnya bersifat fecal-oral. Beberapa hasil studi menunjukkan potensi risiko penyebaran infeksi EAEC melalui pangan.

f) *Difusi Adheren E. coli* (DAEC)

Escherichia coli patogen ke enam yang termasuk dalam kelompok *E. coli* penyebab diare adalah DAEC. Faktor-faktor virulensi yang dimiliki DAEC berbeda dengan gen virulensi yang ditemukan pada *E. coli* lainnya (EAEC, ETEC, atau EPEC). Patogenitas dari DAEC belum terlalu banyak dikaji. Mekanisme patogenesis DAEC dimulai dengan menempelnya Afa dan Dr dengan suatu faktor yang disebut DAF, yang ditemukan dipermukaan usus. Menempelnya Afa-Dr dan DAF menyebabkan agregasi dari molekul DAF di bawah bakteri. Penempelan tersebut juga memicu sinyal pengatur Ca2+, sehingga dapat menyebabkan kerusakan mikrovili dan mengakibatkan penuran aktivitas enzim yang terlibat dalam proses sekresi dan absorpsi usus, dan akhirnya memicu terjadinya diare.

6. Identifikasi *Escheriacia coli*

a) Inokulasi pada media EMBA

EMBA adalah media selektif dan media diferensial. Media ini mengandung eosin dan metilen biru, yang menghambat pertumbuhan bakteri gram positif, maka media ini dipilih untuk bakteri gram negatif. EMBA juga mengandung karbohidrat laktosa, dengan adanya karbohidrat laktosa bakteri Gram negatif terdiferensiasi berdasarkan pada kemampuan mereka untuk memfermentasi laktosa. Warna media sebelum pemupukan bakteri berwarna merah keunguan. Perubahan warna hijau metalik pada media EMBA karena

Escherichia coli dapat memfermentasi laktosa yang mengakibatkan peningkatan kadar asam dalam media. Kadar asam yang tinggi dapat mengendapkan methylen blue dalam media EMBA. Hasil pertumbuhan *Escherichia coli* pada EMBA memperlihatkan koloni berwarna hijau metalik, diameter 2 - 3 mm dengan titik hitam di bagian tengah koloni (Suardana dkk., 2014).

Koloni hijau metalik yang tumbuh pada media EMBA dapat diduga koloni tersebut adalah *Escherichia coli*. Bakteri tersebut membentuk koloni metalik dikarenakan adanya reaksi antara bakteri dengan *Methylene blue*. Koloni yang diduga dikonfirmasi menggunakan uji Indol (Kartikasari dkk, 2019).

b) Uji Biokimia

Uji biokimia yang digunakan dengan menggunakan media SIM (Sulfide Indole Motility). Media SIM (Sulfide Indole Motility) adalah media differensial. Media ini digunakan untuk tes kemampuan organisme untuk melakukan beberapa hal yaitu mengurai sulfur, menghasilkan indole dan motilitas (gerak). SIM umumnya digunakan untuk membedakan anggota Enterobacteriaceae (Ubaidillah, 2020).

1) Uji Sulfide

Sulfur dapat direduksi menjadi H2S (Hidrogen Sulfida) baik oleh katabolisme asam amino sistem oleh desulfurase sistem enzim atau dengan pengurangan thiosulphate dalam respirasi anaerobik. Jika hidrogen sulfida diproduksi maka warna hitam akan terbentuk pada media (Ubaidillah, 2020).

2) Uji Indol

Dalam pengujian indol digunakan media SIM, yang mengandung substrat triptofan. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan menambahkan pereaksi kovac, yang akan mengasilkan suatu lapisan berwarna merah muda. Warna merah muda dihasilkan oleh pereaksi, yang terdiri atas p-dimetilaminobenzaldehida, butanol, dan asam hidroklorida. Indol diekskresikan dari media ke dalam lapisan pereaksi oleh komponen butyl alcohol yang diasamkan dan membentuk suatu kompleks (Cappucino dkk., 2013).

Triptofan merupakan asam amino esensial yang dapat mengalami oksidasi melalui aktivitas enzimatik beberapa bakteri. Penguahan triptofan menjadi produk-produk metabolik dimediasi oleh enzim triptofanase. Kemampuan menghidrolisis triptofan yang disertai dengan produksi indol bukan merupakan karakteristik semua mikroorganisme sehingga dapat digunakan sebagai uji karakteristik secara biokimia (Cappucino dkk., 2013).

Uji Indol yang dilakukan pada media *Sulfide Indole Motility* (SIM) terduga *Escherichia coli* yaitu koloni berwarna hijau metalik atau hitam yang diambil pada media EMBA menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya cincin indol berwarna merah muda setelah ditetesi reagen kovac (Kartikasari dkk, 2019).

3) Uji Motilitas

Uji motilitas dengan agar SIM menunjukkan bahwa bakteri memiliki flagela yang ditandai adanya koloni dari bawah menuju atas. Bakteri ini memiliki flagela petritikus yakni flegela yang ke seluruh permukaan bakteri.

Uji Motilitas dilakukan dengan menginokulasikan inokulum menggunakan jarum tanam tajam secara tegak lurus ke dalam media agar tegak SIM (Sulfide Indol Motility). Usahakan jarum tanam tajam jangan sampai menyentuh dasar tabung reaksi. Biakan kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 37^0C. adanya pertumbuhan bakteri diluar garis tusukan menandakan bahwa bakteri tersebut motil/ bergerak. Pertumbuhan bakteri diluar garis tusukan dikarenakan *Escherichia coli* merupakan bakteri yang memiliki flagella peritrikus motil (Prasetya, 2019).