

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Keamanan Pangan

Makanan dan minuman termasuk kebutuhan dasar terpenting dan sangat esensial dalam kehidupan manusia karena merupakan sumber energi satu-satunya. Sehingga apapun yang akan disajikan sebagai makanan maupun minuman manusia haruslah memenuhi syarat utama, yaitu citra rasa makanan dan keamanan makanan dalam arti makanan tidak mengandung zat atau mikroorganisme yang dapat mengganggu kesehatan tubuh yang memakan makanan itu (Sirait, 2010).

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).

B. Kedelai

1. Definisi

Kedelai (*Glycine max L. Merr*) merupakan tanaman asli Daratan Cina dan telah dibudidayakan oleh manusia sejak 2500 SM. Kedelai merupakan salah satu

hasil pertanian yang sangat penting artinya sebagai bahan makanan, karena jumlah dan mutu protein yang dikandungnya sangat tinggi dan susunan asam amino esensialnya lengkap. Kedelai mengandung hampir semua zat gizi yang dibutuhkan oleh tubuh yakni sebagai sumber protein, dan lemak, serta sebagai sumber vitamin A, E, K, dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kadar protein kacang-kacangan berkisar antara 20-25%, sedangkan pada kedelai mencapai 40% (Irwan, 2006).

Kedelai memiliki kandungan isoflavon (genistein dan daidzein), fitosterol, asam fitat, asam lemak, saponin, asam fenolat, lesitin dan inhibitor protease yang merupakan zat antioksidan dan berkhasiat sebagai obat. Kandungan isoflavon kedelai lebih tinggi dibandingkan dengan jenis kacang-kacangan lainnya. Kandungan isoflavon kedelai tertinggi terdapat pada biji kedelai (Irwan, 2006).

2. Klasifikasi

Pada awalnya, kedelai dikenal dengan beberapa nama botani, yaitu *Glycine soja* dan *Soja max*. Namun pada tahun 1948 telah disepakati bahwa nama botani yang dapat diterima dalam istilah ilmiah, yaitu *Glycine max (L.) Merrill*. Menurut (Irwan, 2006), klasifikasi tanaman kedelai sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Divisio : *Spermatophyta*
Subdivisio : *Angiospermae*
Kelas : *Dicotyledonae*
Famili : *Leguminosae*
Genus : *Glycine*

Species : *Glycine max (L.) Merril*

C. Susu Kedelai

1. Definisi

Susu kedelai adalah cairan hasil ekstraksi protein biji kedelai dengan menggunakan air panas (Muhardianti, 2017). Susu kedelai adalah produk yang berasal dari ekstrak biji kacang kedelai dengan air atau larutan tepung kedelai dalam air, dengan atau tanpa penambahan bahan makanan lain yang diizinkan (BSN, 1995). Susu kedelai berwarna putih seperti susu, dan bergizi tinggi mengandung protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin. Susu kedelai memiliki beberapa keunggulan yakni tidak mengandung kolesterol, proteinnya tidak menimbulkan alergi sehingga cocok untuk bayi dan anak – anak yang alergi susu sapi, rendah lemak, bergizi tinggi, teknologi pembuatan susu kedelai relatif mudah dan biaya produksi relatif murah dan tidak mengandung laktosa. (Muhardianti, 2017).

Susu kedelai mempunyai nilai gizi yang mirip dengan susu sapi dimana kadar protein dan komposisi asam amino serta lemak dalam susu kedelai hampir sama dengan susu sapi, Untuk anak-anak balita yang kekurangan gizi, dengan minum dua gelas susu kedelai sudah dapat memenuhi 30% kebutuhan protein sehari. Karena kandungan asam amino lisinnya yang sangat tinggi, susu kedelai dapat meningkatkan nilai gizi protein pada nasi dan makanan dari biji-bijian lain (Muhardianti, 2017).

Susu kedelai memiliki dua macam bentuk yaitu cair dan bubuk. Susu kedelai cair menjadi media pertumbuhan bakteri yang sempurna karena mengandung banyak gizi sehingga menjadi cepat basi. Susu kedelai bubuk kurang

diminati oleh masyarakat karena susu cepat mengendap. Susu kedelai merupakan salah satu bentuk emulsi. Sifat emulsi pada susu kedelai cenderung kurang stabil yaitu cepat mengalami pengendapan. Endapan tersebut merupakan zat nutrisi yang diperlukan oleh tubuh yang terdiri dari karbohidrat, protein dan lemak. Susu kedelai yang mengandung endapan tidak disukai konsumen (Siburian, 2014).

Ada beberapa faktor yang menyebabkan produk olahan kedelai kurang disukai. Antara lain bau langu atau bau kacang, rasa pahit dan rasa seperti kapur. Jika dibuat dengan cara yang tidak baik, susu kedelai masih mengandung senyawa-senyawa antigizi dan senyawa penyebab *off-flavor* yaitu penyimpan citarasa dan aroma pada produk olah kedelai yang berasal dari bahan bakunya, yaitu kedelai. Senyawa-senyawa tersebut membatasi kapasitas protein untuk diserap oleh tubuh tetapi mudah diatasi dengan proses perendaman, perebusan atau fermentasi, sehingga aman untuk dikonsumsi manusia (Muhardianti, 2017).

Kontaminasi mikroorganisme di dalam air susu kedelai dapat diperoleh dari penggunaan alat - alat pemrosesan yang kotor, kotoran di sekitar wadah pengolahan dan dapat juga berasal dari bahan baku yang tidak bersih serta debu atau faktor lain yang menyebabkan terjadinya kontaminasi terhadap air susu kedelai tersebut. Adanya kontaminasi tersebut menyebabkan kerusakan pada kualitas susu kedelai sehingga tidak layak untuk diminum (Helpida, Indriati, & Irdawati, 2019).

2. Kandungan Gizi dan Manfaat Susu Kedelai

Susu kedelai memiliki kadar protein dan komposisi asam amino yang hampir sama dengan susu sapi dan tidak mengandung kolesterol, karena itu susu

kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi, demikian keunggulan susu kedelai dibuat. Komposisi gizi susu kedelai hampir sama dengan susu sapi oleh karena itu, susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi (Muhardi, 2017).

Susu kedelai harganya lebih murah daripada susu hewani. Susu kedelai dapat dibuat dengan teknologi dan peralatan sederhana, serta tidak memerlukan keterampilan khusus, sehingga semua orang dapat membuat sendiri di rumah. Selain untuk konsumsi sendiri, susu kedelai juga dapat menjadi ladang usaha yang prospektif bila dikelola dengan baik. Kendala utama yang dihadapi produsen adalah cepat rusaknya susu kedelai apabila susu kedelai tidak disimpan di lemari pendingin. Susu kedelai yang rusak ditandai dengan berubahnya bau, warna, rasa, atau mengental, kemudian terjadi pemisahan air dengan endapan sari kedelai.

Komposisi gizi di dalam susu kedelai dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1.
Komposisi Gizi Susu Kedelai Cair dan Susu Sapi (dalam 100gram)

Komponen	Susu Kedelai	Susu Sapi
Kalori(Kkal)	41,00	61,00
Protein(gram)	3,50	3,20
Lemak(gram)	2,50	3,50
Karbohidrat(gram)	5,00	4,30
Kalsium(mg)	50,00	143,00
Fosfor(gram)	45,00	60,00
Besi(gram)	0,70	1,70
Vitamin A(SI)	200,00	130,00
Vitamin B(mg)	0,08	0,03
Vitamin C(mg)	2,00	1,00
Ar(gram)	87,00	88,33

Sumber (Aman dan Hardjo, 1973 : 158)

Pada dasarnya semua biji-bijian dapat diproses menjadi susu. Dengan diolah menjadi susu, maka akan menaikkan nilai cerna dari biji-bijian tersebut.

Susu kedelai memiliki bentuk menyerupai susu sapi, cara menyiapkannya mudah sehingga memungkinkan untuk menjadi minuman bergizi di negara-negara berkembang. Pembuatan susu kedelai pada dasarnya adalah mengolah biji kacang kedelai untuk diambil sarinya. Proses pembuatan susu kedelai meliputi tahap- tahap: penyortiran, pencucian, perendaman, penghancuran hingga berbentuk bubur, kemudian penyaringan sehingga diperoleh sari kacang kedelai serta pemanasan.

Biji kacang-kacangan merupakan sumber protein bagi sebagian besar penduduk dunia, khususnya bagi masyarakat di negara-negara berkembang seperti Indonesia. Bahkan dewasa ini, pola konsumsi masyarakat telah bergeser dari bahan makanan hewani ke bahan makanan nabati. Hal ini terjadi karena masyarakat berusaha menghindari makanan dengan kadar kolesterol tinggi mengingat akan bahayanya terhadap jantung.

Berdasarkan penelitian Andarwulan dkk. (2011),dijelaskan bahwa bahan makanan hewani banyak mengandung kolesterol sedangkan bahan makanan nabati tidak demikian, terutama kacang kedelai. Kedelai sebagian besar dikonsumsi dalam bentuk olahan dan hanya sebagian kecil yang dikonsumsi secara langsung. Salah satu produk olahan kedelai adalah susu kedelai. Susu kedelai mempunyai nilai gizi yang mirip dengan susu sapi dan sangat baik digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi anak-anak yang menderita intoleransi laktosa. Dengan sedikit suplementasi khusus, susu kedelai dapat menggantikan susu sapi secara baik.

Susu kedelai merupakan minuman yang bergizi tinggi, terutama karena kandungan proteinnya. Selain itu susu kedelai juga mengandung lemak,

karbohidrat, kalsium, phosphor, zat besi, provitamin A, Vitamin B kompleks (kecuali B₁₂) dan air. Namun perhatian masyarakat kita terhadap jenis minuman ini pada umumnya masih kurang. Susu kedelai ini harganya lebih murah dibandingkan susu produk hewani, dapat dibuat dengan teknologi dan peralatan yang sederhana serta tidak memerlukan keterampilan khusus. Penggunaan air sumur dapat menghasilkan susu kedelai dengan rasa yang lebih enak. Untuk memperoleh susu kedelai yang baik, maka perlu menggunakan kedelai yang berkualitas baik (Andarwulan et al., 2011).

Oleh karena kandungan gizi yang terdapat pada susu kedelai sangat bagus, terutama adalah kandungan proteinnya, maka akhir-akhir ini masyarakat menjadikan susu kedelai sebagai minuman pengganti susu dari protein hewani dan sekaligus dijadikan menu *dietary* bagi orang yang memiliki kelebihan badan dan alergi terhadap protein (*lactose intolerant*) (Andarwulan et al., 2011).

1. Proses Pembuatan Susu Kedelai

Pada prinsipnya terdapat dua bentuk susu kedelai, yaitu susu kedelai cair dan susu kedelai bubuk. Bentuk cair jauh lebih banyak dibuat dan diperdagangkan. Susu kedelai dapat disajikan dalam bentuk murni, artinya tanpa penambahan gula dan cita rasa baru. Dapat juga ditambah gula atau flavor (cita rasa) seperti moka, pandan, vanili, coklat, strawberi dan lain-lain. Jumlah gula yang ditambahkan sekitar 5-7% dari berat susu (Anggarawati, 2018).

Pembuatan susu kedelai pada dasarnya adalah memproses biji kacang kedelai untuk diambil sarinya. Proses pembuatan susu kedelai meliputi tahap-tahap: penyortiran, pencucian, perendaman, penghancuran, kemudian penyaringan

sehingga diperoleh sari kacang kedelai, dan pemanasan. Langkah pertama yang perlu dilakukan dalam membuat susu kedelai adalah memisahkan biji kedelai dari kotoran dan biji yang rusak. Setelah itu, kedelai direndam selama 12 jam, biji dipisahkan kulitnya dan dicuci. Kedelai yang telah dipisahkan dari kulitnya direndam dengan air panas selama 10 menit kemudian digiling menggunakan air panas dengan perbandingan air dan kedelai 7 : 1. Hasilnya penggilingan tersebut kemudian disaring. Selanjutnya filtrat yang diperoleh dipanaskan sampai 10 menit (waktu pemanasan dihitung setelah susu kedelai mendidih)

Pembuatan susu kedelai tidak terlalu rumit dan membutuhkan biaya mahal, karenadapat dikerjakan di dapur serta dapat dipraktikkan oleh seluruh lapisan masyarakat. Tahapan dalam pembuatan susu kedelai dapat dilakukan seperti langkah-langkah berikut:

- a. Penyortiran, dengan tujuan untuk memilih biji-biji kedelai yang berkualitas baik.
- b. Pencucian, dengan tujuan menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat pada biji kedelai.
- c. Perendaman, dengan tujuan untuk mempermudah dan mempercepat proses pelepasan kulit ari agar memudahkan proses penggilingan.
- d. Penggilingan, dilakukan dengan air dengan perbandingan 1:6 (b/v), dengan menggunakan perbandingan ini akan dihasilkan kekentalan seperti pada susu sapi dan juga akan didapatkan protein susu yang tinggi.
- e. Penyaringan, dengan tujuan untuk memperoleh sari kedelai. Filtrat inilah yang nantinya akan menjadi susu kedelai

- f. Pemanasan, dilakukan pada proses akhir pembuatan susu dengan tujuan untuk mematikan semua organisme yang bersifat patogen dan sebagian mikroorganisme yang ada sehingga tidak merubah cita rasa maupun komposisi susu (Andarwulan et al., 2011).

Pembuatan susu kedelai dapat menggunakan teknologi dengan peralatan yang sederhana maupun modern dengan peralatan yang canggih. Secara tradisional, susu kedelai biasanya dibuat dengan cara menggiling biji kedelai yang telah direndam dalam air kemudian disaring untuk mendapatkan filtratnya. Pada teknologi yang modern, susu kedelai disajikan dalam bentuk bubuk melalui metode pengeringan semprot (*spray drying*) sehingga dapat meningkatkan masa simpan produk (Anggarawati, 2018).

Susu kedelai cair dapat dibuat dengan menggunakan teknologi dan peralatan sederhana yang tidak memerlukan ketrampilan tinggi, maupun dengan teknologi modern dalam pabrik. Dewasa ini banyak cara yang dapat digunakan untuk membuat susu kedelai cair dengan hasil yang baik. Beberapa metode yang umum digunakan dalam pembuatan susu kedelai untuk minuman manusia antara lain metode Illinois, metode Pusbangtepa-IPB, dan metode sederhana. Metode sederhana dapat digunakan untuk skala yang lebih kecil dan peralatan yang lebih sederhana, yang cocok bagi skala rumah tangga dan industri kecil. Disamping dalam bentuk cair, susu kedelai dapat juga dibuat dalam bentuk bubuk (*powder*), yang pada umumnya dilakukan dengan cara pengeringan semprot (*spray drying*) (Anggarawati, 2018).

D. *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah kuman oportunistis yang banyak ditemukan didalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus misalnya diare pada anak dan travelers diarhea, seperti juga kemampuannya menimbulkan infeksi pada jaringan tubuh lain diluar usus (Syahrurachman dkk.,2010). *Escherichia coli* adalah bakteri yang umum ditemukan di bawah usus organisme berdarah panas (endotermik). Kebanyakan strain *Escherichia coli* tidak berbahaya, tetapi beberapa serotype dari bakteri ini dapat menyebabkan keracunan makanan yang serius pada manusia dan diare akibat kontaminasi makanan (Radji, 2009).

Escherichia coli merupakan flora normal yang terdapat dalam usus. Bakteri enterik yang lain (*Proteus sp*, *Enterobacter sp*, *Morganella sp*, *Providencia sp*, *Citrobacter sp*, dan *Serratia sp*) juga ditemukan sebagai anggota dari flora normal dalam usus, tetapi jarang dibandingkan *Escherichia coli*. Disebut *opportunistik* karena sering dijumpai dan dapat hidup pada jaringan tubuh makhluk hidup, bahkan dapat dijumpai dalam tanah, sampah, serta air (Kuswiyanto, 2016). *Escherichia coli* merupakan salah satu flora usus normal yang mampu menghasilkan vitamin K dalam usus dan merupakan bakteri dalam famili *enterobacteriaceae* yang paling sering dijumpai dibandingkan dengan *enterobacteriaceae* yang lain. Bakteri ini mempunyai kemampuan menyebabkan infeksi pada jaringan tubuh lain (Kuswiyanto, 2016). Keberadaan adanya kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada produk olahan pangan biasanya menyebabkan diare dan infeksi saluran pencernaan pada manusia (Ismail, 2012).

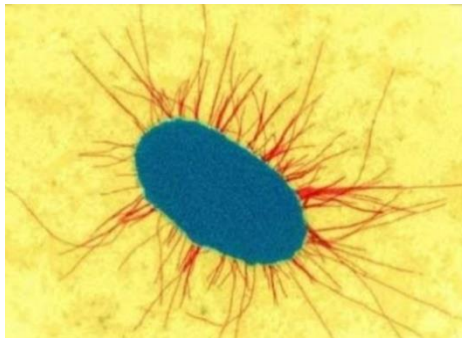
1. Klasifikasi Ilmiah *Escherichia coli*

Tabel 2.
Klasifikasi Ilmiah *Escherichia coli*

Kingdom	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Class	Gammaproteobacteria
Ordo	Enterobacteriales
Family	Enterobacteriaceae
Genus	Escherichia
Species	Escherichia coli

Sumber (Kuswiyanto, 2016)

2. Morfologi



Gambar 1. .Morfologi *Escherichia coli*

Sumber (Kuswiyanto, 2016)

Bakteri berbentuk batang lurus,tidak berspora,ada yang berkapsul,pada perwarnaan gram bersifat negative,ukuran 0,4-0,7 x 1,4 mikron,sebagian bergerak aktif dengan flagel peritrik (Kuswiyanto, 2016).

2. Fisiologi

Escherichia coli tumbuh pada media sederhana dengan pH 7,2.Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 10-40 °C dengan suhu optimal 37,5 °C. *Escherichia coli* mengubah glukosa menjadi asam dan gas,memfermentasi laktosa dan manitol,tergolong indol-positif,membentuk koloni yang khas pada EMB (*Eosin*

Methylene Blue) beberapa jenis dapat menghemolisis dan tumbuh pada suasana anaerob (Kuswiyanto, 2016).

3. Reproduksi

Reproduksi kuman dapat berlangsung secara aseksual maupun seksual. Reproduksi secara seksual dilakukan melalui pembelahan yang ditandai dengan peleburan material kromosom dari dua kuman sehingga lahir sel-sel kuman dengan sifat yang berasal dari kedua sel induknya. Reproduksi semacam ini hanya terjadi antara kuman sejenis atau satu family. Cara aseksual dilakukan dengan cara :

a. Pembelahan

Umumnya kuman berkembang biak secara antitosis dengan membelah diri menjadi dua (binary division). Waktu antara pembelahan tersebut berbeda-beda untuk setiap jenis kuman, bervariasi antara 20 menit dan 15 jam.

b. Pembentukan tunas atau cabang

Kuman membentuk tunas, dan tunas tersebut akan lepas dan membentuk kuman baru. Reproduksi dengan pembentukan cabang diketahui dengan pembentukan tunas yang tumbuh menjadi cabang dan akhirnya melepaskan diri.

c. Pembentukan filament

Pada pembentukan filamen, sel mengeluarkan serabut panjang filamen yang tidak bercabang. Bahan kromosom kemudian masuk ke dalam filamen. Filamen tersebut kemudian terputus-putus menjadi beberapa bagian. Setiap bagiannya membentuk kuman baru (Kuswiyanto, 2016).

5. Sifat-sifat *Escherichia coli*

Merupakan flora komensal yang paling banyak pada usus manusia dan hewan. Dapat berubah menjadi oportunistik pathogen bila hidup di luar usus yaitu lokasi normal tempatnya berada dan dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, saluran empedu, infeksi luka dan mastitis pada sapi. Dapat tumbuh subur pada daerah tertentu, bergantung pada faktor-faktor fisiologik, suhu, kelembaban, serta adanya zat-zat makanan dan adanya zat-zat penghambat tertentu.

Salah satu jenis dari organisme koliform yang paling umum digunakan sebagai indikator adanya polusi diantara kelompok koliform secara keseluruhan. Organisme koliform merupakan suatu grup bakteri heterogen, bentuk batang, gram negatif, dan kuman ini digunakan sebagai indikator adanya polusi yang berasal dari kotoran manusia atau hewan dan menunjukkan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, susu dan produk-produk susu. Tumbuh pada suhu antara 10°-40°C, dengan suhu optimum 37°C. pH optimum untuk pertumbuhannya adalah pada 7,0-7,5, pH minimum pada 4,0 dan maksimum pada 9,0. Bakteri ini relatif sangat sensitif terhadap panas dan dapat diinaktifkan pada suhu pasteurisasi makanan atau selama pemasakan makanan. Sehingga untuk mencegah pertumbuhan bakteri pada makanan, sebaiknya disimpan pada suhu rendah.

Sebetulnya, bakteri akan mati bila dipanaskan pada suhu 100°C. Karenanya, air yang akan dipakai minuman sebaiknya direbus dulu hingga mendidih. Teknik lain untuk mematikan bakteri adalah dengan dibekukan hingga 0°C. Namun, tak semua bakteri mati dalam suhu 0°C. Flora yang menetap pada daerah tertentu memegang peranan dalam mempertahankan kesehatan dan fungsi

normal. Anggota-anggota flora penetap dalam saluran pencernaan mensintesis vitamin K dan membantu absorpsi zat-zat makanan. Sebaliknya, anggota flora normal sendiri dapat menimbulkan penyakit dalam keadaan tertentu. Organisme-organisme ini menyesuaikan diri terhadap cara kehidupan tidak invasif karena adanya pembatasan lingkungan. Bila dengan paksa disingkirkan dari lingkungan yang terbatas ini dan dimasukkan ke dalam aliran darah atau jaringan, organisme-organisme ini dapat menjadi pathogen. Misalnya, streptokokus golongan viridians merupakan organisme penetap yang paling sering ditemukan pada saluran pernafasan bagian atas. Bila sejumlah besar bakteri dimasukkan ke dalam aliran darah (misalnya setelah ekstraksi gigi atau tonsilektomi), bakteri dapat tinggal pada katup-katup jantung abnormal dan menimbulkan endokarditis inefektif subakut. Bila terjadi kerusakan jaringan akibat trauma, defisiensi gizi, atau infeksi, bakteri ini berproliferasi dengan cepat dalam jaringan nekrotik dan menimbulkan penyakit (Sirait, 2010).

6. Klasifikasi E. coli berdasarkan sifat-sifat virulensinya :

- a. *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC) Adalah penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang dan tidak membahayakan pada sebahagian orang dewasa. Mungkin ditularkan melalui air yang digunakan untuk mencuci botol. Karenanya, botol susu bayi sebaiknya direbus setelah dicuci untuk mencegah diare. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare cair, yang biasanya sendiri tetapi dapat juga menjadi kronik. Masa inkubasinya 8-24 jam dengan rata-rata 11 jam.

Gejala yang dapat ditimbulkan apabila terinfeksi E. coli jenis ini antara lain :
panas dingin, sakit kepala, kram usus, diare berair.

- b. *Escherichia coli* Enteroinvasif (EIEC) Menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Sering terjadi pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju ke negara tersebut. Strainnya bersifat nonlaktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat tidak bergerak. Menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus. Cukup membahayakan karena dapat menyebabkan penyakit disentri. Biasanya ditandai dengan tinja yang mengandung darah.
- c. *Escherichia coli* Enterotoksigenik (ETEC) Adalah penyebab yang sering dari “diare wisatawan” dan sangat penting menyebabkan diare pada bayi di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotoksin tidak tahan panas (LT). Orang-orang yang tinggal di daerah pinggiran di mana organisme semacam ini (LT), umumnya memiliki antibodi dan jarang mengalami diare pada pemaparan kembali E. coli penghasil LT. Sedangkan ETEC menghasilkan enterotoksin tahan panas dapat menimbulkan diare yang berat. Masa inkubasinya 8-44 jam.dengan rata-rata 26 jam. Gejala yang dapat ditimbulkan apabila terinfeksi E. coli jenis ini antara lain : diare, munta-muntah, dehidrasi, shock.
- d. *Escherichia coli* Enterohemoragik (EHEC) Bakteri yang sangat berbahaya bakteri ini hidup dalam daging mentah. Peneliti lain juga menemukannya pada air limbah rumah potong ayam. Menghasilkan verotoksin yaitu suatu sel ginjal dari monyet hijau Afrika. Bentuk diare sangat berat dan dengan sindroma

uremia hemolitik, suatu penyakit akibat gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikriangiopatik, dan trombositopenia. Banyak kasus kolitis hemoragik dan komplikasinya dapat dicegah dengan memasak daging sapi sampai matang.

- e. *Escherichia coli* Enteroagregatif (EAEC) Menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat sedang berkembang. Bakteri ini ditandai dengan pola khas pelekatannya pada sel manusia. Bahaya terbesar sehubungan dengan air minum apabila air tersebut telah tercemaroleh buangan atau kotoran manusia atau hewan berdarah panas. Bila pengotoran semacam itu baru saja terjadi, dan bila haltersebut disebabkan oleh penderita atau pembawa penyakit menular seperti demam usus atau disentri, air tersebut kemungkinan mengandung bibit-bibit penyakit yang masih hidup (Sirait, 2010).

7. Epidemi,Pencegahan,dan Pengawasan

Bakteri *coliform* merupakan flora normal saluran cerna beberapa hari setelah bayi lahir,dan sejak itu merupakan bagian utama jasad renik aerobik normal pada tubuh. *Escherichia coli* adalah salah satu prototipenya. Ditemukan coliform dalam air atau susu dianggap sebagai adanya kontaminasi tinja.Adanya spesie *Escherecia* atau *Enterobacter* atau “intermediate-nya” dalam jumlah besar dalam air minum menunjukkan adanya kontaminasi permukaan (Kuswiyanto, 2016).

Tindakan pengawasan tidak mudah dilakukan terhadap flora endogen normal. Serotipe enteropatogenik *Escherichia coli* dan kuman “oarakolon” harus diawasi seperti *Salmonella*. *Coliform* merupakan masalah pokok infeksi rumah sakit saat ini.Hal yang penting diketahui adalah bahwa banyak kuman coliform

gram negative bersifat “koportunis” yang dapat menimbulkan penyakit apabila masuk kedalam tubuh penderita yang lemah di rumah sakit atau lembaga-lembaga lainnya. Kuman ini sering ditularkan oleh pegawai, alat-alat atau pengobatan perenteral. Pengawasan kuman bergantung pada tindakan cuci tangan, aseptis yang diteliti, sterilisasi alat, desinfeksi, dan pengendalian perintah pengobatan intravena, dan tindakan pencegahan yang diteliti dalam menjaga agar saluran kemih tetap steril (Kuswiyanto, 2016).

E. Angka Lempeng Total

Angka Lempeng Total Metode yang digunakan untuk pengujian mikrobiologi sangat ditentukan oleh persyaratan yang diacu, umumnya pengujian dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Angka lempeng total adalah jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per mililiter contoh yang ditentukan melalui metode standar (Badan Standarisasi Nasional, 2009). Metode kuantitatif digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba yang ada pada suatu sampel, umumnya dikenal dengan Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Paling Mungkin. Uji Angka Lempeng Total (ALT) menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung, interpretasi hasil berupa angka dalam koloni CFU (*colony forming unit*) per ml/g atau koloni/100 ml. Angka Lempeng Total (ALT) disebut juga angka lempeng heterotropik (*heterotropic plate count/HPC*) merupakan indikator keberadaan mikroba heterotropik termasuk bakteri dan kapang yang sensitif terhadap proses desinfektan seperti bakteri *coliform*, mikroba resisten desinfektan seperti pembentuk spora dan mikroba yang dapat berkembang cepat pada air olahan tanpa residu desinfektan. Meski telah mengalami proses desinfeksi yang berbeda, umum

bagi mikroba tumbuh selama perlakuan (*treatment*) dan distribusi dengan konsentrasi berkisar 10^4 - 10^5 sel/ml. Nilai ALT bervariasi tergantung berbagai faktor diantaranya kualitas sumber air, jenis perlakuan, konsentrasi residu desinfektan, lokasi sampling, suhu air mentah, waktu pengujian, metode uji meliputi suhu dan waktu inkubasi (Martoyo, Hariyadi, dan Rahayu, 2014).

Berdasarkan SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemarkan Mikroba Dalam Pangan dijelaskan bahwa jumlah cemarkan mikroba produk olahan kedelai salah satunya sari kedelai yang dikenal dengan susu kedelai adalah $\leq 5 \times 10^4$ koloni/mL (Badan Standarisasi Nasional, 2009). Metode kuantitatif dilakukan dengan beberapa tahap yaitu:

1. Homogenisasi sampel, sebagai tahap pendahuluan dalam pengujian yang berguna untuk membebaskan sel bakteri yang mungkin terlindung partikel sampel dan untuk memperoleh distribusi bakteri sebaik mungkin. Homogenisasi dapat dilakukan menggunakan alat seperti stainless steel blender. Sedangkan sampel bentuk cair tidak perlu menggunakan alat, cukup langsung dicampur dengan pengencer dan dikocok sampai homogen.
2. Tahap pengenceran, menggunakan larutan pengencer yang berfungsi untuk mengaktifkan kembali sel-sel bakteri yang mungkin kehilangan vitalitasnya karena kondisi di dalam sampel yang kurang menguntungkan. Pengenceran suspensi sampel dilakukan untuk mendapatkan koloni yang tumbuh secara terpisah dan dapat dihitung dengan mudah, hal ini akan sangat membantu terutama untuk sampel dengan cemarkan yang sangat tinggi.
3. Tahap pencampuran dengan media (padat/ cair), media padat yang digunakan umumnya adalah Plate Count Agar (PCA) atau Nutrient Agar (NA) sedangkan

untuk inokulasi suspensi homogenat sampel ke dalam media, tergantung dengan metode yang telah dipilih dan kesesuaian dengan sifat sampel dan mikroba yang mungkin ada dalam sampel. Pada keadaan tertentu, media perlu ditambah dengan bahan lain.

4. Tahap inkubasi dan pengamatan, inkubasi dilakukan pada suhu dan lama yang sesuai dan kondisi dibuat sedemikian rupa disesuaikan dengan sifat mikroba (kondisi aerob atau anaerob)
5. Interpretasi hasil

Metode hitungan cawan didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi satu koloni. Jumlah koloni yang muncul pada cawan merupakan satu indeks jumlah mikroba yang hidup terkandung dalam sampel. Setelah inkubasi, jumlah koloni masing-masing cawan diamati. Prinsip dari metode hitungan cawan adalah bila sel mikroba yang masih hidup ditumbuhkan pada medium, maka mikroba tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung, dan kemudian dihitung tanpa menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah jasad renik, dengan alasan :

1. Hanya sel mikroba yang hidup yang dapat dihitung.
2. Beberapa jasad renik dapat dihitung sekaligus.
3. Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba, karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari mikroba yang mempunyai penampakan spesifik (Waluyo, 2010).

Selain keuntungan-keuntungan tersebut di atas, metode hitungan cawan juga mempunyai kelemahan sebagai berikut:

1. Hasil perhitungan tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya, karena beberapa sel yang berdekatan mungkin membentuk koloni.
2. Medium dan kondisi inkubasi yang berbeda mungkin menghasilkan jumlah yang berbeda pula.
3. Mikroba yang ditumbuhkan harus dapat tumbuh pada medium padat dan membentuk koloni yang kompak, jelas, dan tidak menyebar.
4. Memerlukan persiapan dan waktu inkubasi relatif lama sehingga perhitungan koloni dapat dihitung (Muhardianti, 2017).

Metode hitung cawan dapat dibedakan atas dua cara, yaitu metode tuang (*pour plate*) dan metode permukaan (*surface/spread plate*) (Waluyo, 2016).

1. Metode tuang (*Pour Plate*)

Dari pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 1 mL atau 0,1 mL larutan tersebut dipipet ke dalam cawan petri 1 mL menggunakan pipet 1 mL atau 1,0 mL. Sebaiknya waktu antara dimulainya pengenceran sampai menuangkan ke dalam cawan petri tidak boleh lebih lama dari 30 menit (Waluyo, 2016). Kemudian ke dalam cawan tersebut dimasukkan agar cair steril yang telah didinginkan sampai 50°C sebanyak kira-kira 15 mL. Selama penuangan medium, tutup cawan tidak boleh dibuka terlalu lebar untuk menghindari kontaminasi dari luar. Segera setelah penuangan, cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati untuk menyebarkan sel-sel mikroba secara merata, yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan angka delapan, setelah agar memadat. Cawan-cawan tersebut dapat diinkubasikan di dalam inkubator dengan posisi terbalik (Waluyo, 2016). Inkubasi dilakukan pada suhu dan waktu tertentu sesuai dengan jenis

mikroba yang akan dihitung. Medium agar yang digunakan juga disesuaikan dengan jenis mikroba yang akan ditumbuhkan. Selama inkubasi, sel-sel yang masih hidup akan tumbuh dan membentuk koloni yang dapat terlihat langsung oleh mata (Waluyo, 2016).

Setelah berakhir masa inkubasi, koloni yang terbentuk dihitung. Setiap koloni dapat dianggap berasal dari satu sel yang membelah menjadi banyak sel, meskipun juga mungkin berasal dari lebih satu sel yang letaknya berdekatan. Perhitungan jumlah koloni dapat dilakukan menggunakan “*Quebec Colony Counter*”. Ketelitian akan lebih tinggi jika dilakukan pemupukan secara duplo, yaitu dengan menggunakan dua cawan petri untuk setiap pengenceran (Waluyo, 2016).

2. Metode permukaan (*Surface/Spread plate*)

Pada pemupukan dengan metode permukaan, agar steril terlebih dahulu dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Setelah membeku dengan sempurna, kemudian sebanyak 0,1 mL contoh yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar tersebut. Sebuah batang gelas melengkung dicelupkan ke dalam alkohol 95% dan dipijarkan sehingga alkohol habis terbakar. Setelah dingin, batang gelas tersebut digunakan untuk meratakan contoh di atas medium agar dengan cara memutar cawan petri di atas meja. Selanjutnya inkubasi dilakukan seperti pada metode tuang. Tetapi harus diingat bahwa jumlah contoh yang ditumbuhkan hanya 0,1 mL, tidak boleh 1 mL, jadi harus dimasukkan ke dalam perhitungan pengenceran untuk mendapatkan “*Total Count*” (Waluyo, 2016).

Laporan dari hasil menghitung dengan metode Angka Lempeng Total menggunakan suatu standar yang disebut *Standard Plate Counts* (SPC) sebagai berikut (Waluyo, 2016):

1. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300.
2. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
3. Satu deretan (rantai) koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni. Kemudian dihitung dengan rumus:

Koloni per mL atau per gram =

$$\text{Jumlah koloni per cawan} \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

Tidak ada koloni yang menutup lebih besar dari setengah luas petri dish, koloni demikian dinamakan spreader.

4. Perbandingan jumlah bakteri hasil pengenceran yang berturut-turut antara pengenceran yang lebih besar dengan pengenceran sebelumnya, jika sama atau lebih kecil dari dua hasilnya dirata-rata. Tetapi jika lebih besar dari dua yang dipakai jumlah mikroba dari hasil pengenceran sebelumnya. Jika sudah dilakukan pengulangan dan hasil pemeriksaan antara yang pertama dan kedua tidak ada perbedaan yang signifikan maka hasilnya dirata-rata.

Dalam *Standard Plate Counts* (SPC) ditentukan cara pelaporan dan perhitungan koloni sebagai berikut (Waluyo, 2016):

1. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka yakni angka pertama (satuan) dan angka kedua (desimal) jika angka sama dengan atau lebih besar

daripada 5, harus dibulatkan satu angka lebih tinggi pada angka kedua. Sebagai contoh, didapatkan $1,7 \times 10^4$ unit koloni/gram atau $2,0 \times 10^4$ unit koloni/gram.

2. Jika pada semua pengenceran dihasilkan kurang dari 30 koloni per cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu tinggi. Karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang terendah yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
3. Jika pada semua pengenceran dihasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah. Karena itu, jumlah koloni pada pengenceran yang tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 dikalikan dengan faktor pengenceran, tetapi jumlah yang sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
4. Jika jumlah cawan dari dua tingkat pengenceran dihasilkan koloni dengan jumlah antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan dua, dilaporkan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan faktor pengencerannya. Jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar daripada 2, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.
5. Jika digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut, tidak boleh dari satu. Oleh karena itu, harus dipilih tingkat pengenceran yang menghasilkan kedua cawan duplo dengan koloni antara 30 dan 300

F. Identifikasi *Escherichia coli*

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 Kadar asam yang tinggi dapat mengendapkan methylen blue dalam media EMBA (Jamilatun & Aminah, 2016). Media EMBA sebagai media yang selektif terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Perubahan media yang semula berwarna merah tua kehitaman menjadi hijau metalik dikarenakan peningkatan keasaman agar, dan pengambilan warna oleh proses fermentasi *Escherichia coli*, sehingga media ini selektif untuk pertumbuhan *Escherichia coli* (Sabudi & Hendrayana, 2017). Karakteristik biokimia *Escherichia coli* lainnya adalah kemampuannya untuk memproduksi indol, kurang mampu memproduksi sitrat, bersifat negatif pada analisis urease.

Setelah menunjukkan hasil positif pada media EMBA, kemudian koloni tunggal dari media EMBA diambil dengan menggunakan ose dan ditusukkan ke media SIM (*Sulfur Indol Motility*). Dalam pengujian indol digunakan media SIM, yang mengandung substrat triptofan. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan menambahkan pereaksi kovac, yang akan menghasilkan suatu lapisan berwarna merah ceri. Warna merah ceri 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 & Sherman, 2014).

