

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Air Dan Penyakit**

Air merupakan salah satu kebutuhan hidup dan merupakan dasar dari kehidupan di Bumi. Tanpa air, berbagai proses kehidupan tidak dapat berlangsung. Oleh karena itu, penyediaan air merupakan salah satu kebutuhan utama bagi manusia untuk kelangsungan hidup dan menjadi faktor penentu dalam kesehatan dan kesejahteraan manusia (Sumantri, 2010).

Sumber daya air dapat dimanfaatkan untuk berbagai keperluan antara lain; untuk kepentingan rumah tangga (domestik), industri, pertanian, perikanan dan sarana angkutan air. Sesuai dengan kebutuhan akan air dan kemajuan teknologi, air permukaan dapat dimanfaatkan lebih luas lagi antara lain untuk sumber baku air minum dan air industri.

Penyakit yang menyerang manusia dapat ditularkan dan menyebar secara langsung maupun tidak langsung melalui air. Penyakit yang ditularkan melalui air disebut waterborne disease atau water-related disease. Terjadinya suatu penyakit tentunya memerlukan adanya agen dan terkadang vektor. Berikut beberapa contoh penyakit yang dapat ditularkan melalui air berdasarkan tipe agen penyebabnya.

1. Penyakit viral, misalnya hepatitis viral, poliomielitis.
2. Penyakit bakterial, misalnya kolera, disentri, tifoid, diare.
3. Penyakit protozoa, misalnya amebiasis, giardiasis.
4. Leptospiral, misalnya *weil's disease*

Beberapa penyakit yang ditularkan melalui air ini di dalam penularan

terkadang membutuhkan hospes, biasanya disebut dengan *aquatic host*. Hospes *aquatic* tersebut berdasarkan sifat multiplikasinya dalam air terbagi menjadi 2, yaitu:

1. *Water Multiplied*, contoh penyakit dari hospes semacam ini adalah *skistosomiasis* (vektor keong).
2. *Not Multiplied*, contoh penyakit dari hospes semacam ini adalah cacing Guinea dan *fish tape worm* (vektor *cyclop*).

Kira-kira terdapat 20 sampai 30 macam penyakit infeksi yang dapat di pengaruhi oleh perubahan penyediaan air. Biasanya penyakit-penyakit itu di klarifikasikan menurut microba penyebabnya, yaitu; virus, bakteri, protozoa dan cacing. Akan tetapi, cara ini tidak banyak menolong dan memahami efek perbaikan penyediaan air. Sementara itu, penyakit-penyakit yang berhubungan dengan air dapat di bagi menjadi kelompok-kelompok berdasarkan cara penularannya. Mekanisme penularan penyakit sendiri dibagi menjadi empat, yaitu:

1. *Waterborne Mechanism*

Di dalam mekanisme ini, kuman patogen dalam air yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia ditularkan pada manusia melalui mulut atau sistem pencernaan. Contoh penyakit yang di tularkan melalui mekanisme ini antara lain kolera, tifoid, hepatitis, viral, disentri basiler dan poliomielitis.

2. *Waterwashed Mechanism*

Mekanisme penularan seperti ini berkaitan dengan kebersihan umum dan perseorangan.

Pada mekanisme ini terdapat tiga cara penularan, yaitu;

- a. Infeksi melalui alat pencernaan, seperti diare pada anak-anak.
- b. Infeksi melalui kulit dan mata, seperti skabies dan trachoma.
- c. Infeksi melalui binatang pengerat seperti pada penyakit leptospirosis

### 3. *Water-based Mechanism*

Penyakit yang ditularkan dengan mekanisme ini memiliki agen penyebab yang menjalani siklus hidupnya di dalam tubuh vektor atau sebagai *intermediate host* yang hidup di dalam air. Contohnya skistosomiasis dan penyakit akibat *Dracunculus medinensis*

### 4. *Water-related insect vektor mechanism*

Agen penyakit yang ditularkan melalui gigitan serangga yang berkembang biak di dalam air. Contoh penyakit dengan mekanisme penularan semacam ini adalah filariasis, dengue, malaria dan yellow fever.

Untuk mencegah terjadinya penyakit yang di akibatkan penggunaan air, kualitas air harus dijaga sesuai dengan baku mutu air. Baku mutu air adalah ukuran batas atau kadar makhluk hidup, zat, energi atau komponen yang ada atau harus ada dan/atau unsur pencemar yang di tenggang keberadaannya di dalam air. Untuk memenuhi hal ini, perlu dilakukan pengukuran atau pengujian kualitas (mutu) air berdasarkan parameter-parameter tertentu dan metode tersebut. Dalam peraturan Pemerintahan RI No. 82 Tahun 2001, mutu air ditetapkan melalui pengujian parameter fisika, parameter kimia, parameter mikrobiologi dan parameter radioaktivitas. Pengujian parameter fisika meliputi pengukuran temperatur air, pengukuran kadar residu terlarut dalam air dan kadar residu tersuspensi dalam air. Pengujian parameter kimia dilakukan melalui pengukuran

kadar zat kimia anorganik dan zat kimia organik dalam air. Pengujian parameter mikrobiologi dilakukan melalui pengukuran kadar fecal coliform dan total coliform di dalam air. Adapun pengujian parameter radioaktivitas dilakukan dengan pengukuran Gross-1 dan Gross-B yang terdapat pada air.

## **B. Daun Teh**

Daun teh (*Camellia sinensis*) merupakan suatu tanaman yang memiliki khasiat obat herbal. Daun teh memiliki cirri-ciri sebagai berikut:

1. Memiliki helai daun yang kecil dan cukup tebal.
2. Permukaan daun kaku dengan bentuk melebar dan bertangkai pendek.
3. Memiliki ukuran panjang kurang dari 5 cm.
4. Memiliki tampilan yang mengkilat pada bagian atas daun dan bagian bawahnya berbulu bagi daun yang masih muda.
5. Memiliki tepi daun yang bergerigi dan menggulung ke bawah

Teh banyak dimanfaatkan sebagai bahan minuman hangat dan dingin. Tradisi minum teh bahkan menjadi budaya di beberapa Negara Asia Timur seperti China dan Jepang. Dibalik rasa khas dan tradisi tersebut, ternyata daun teh penuh dengan berbagai manfaat. Hal ini karena teh memiliki kandungan *kafeine*, *tanin*, *theobromin*, *therofilin*, *xanthin*, *adenine*, *kuersetin*, *naringenin*, *fluoride* dan minyak atsiri. Tanaman teh banyak dibudidayakan di perkebunan seluruh nusantara. Tumbuh di dataran tinggi dan hanya dipergunakan pada bagian daun yang pucuk saja untuk diolah menjadi teh celup atau teh seduh. Tanaman teh memiliki manfaat diantaranya menghaluskan kulit, menghilangkan kantung mata, dan antioksidan (Friends, 2013, p. 119).

Berdasarkan cara dan pengolahannya, teh dapat diklasifikasikan menjadi empat, antara lain adalah teh putih, teh hijau, teh oolong, dan teh hitam. Teh putih ini didapatkan dengan cara hanya diuapkan dan dikeringkan setelah dipetik untuk mencegah oksidasi, daun teh muda ini tidak melalui fermentasi (Dias, dkk., 2013). Teh hijau diolah dengan menginaktivasi enzim oksidase atau fenolase yang terdapat pada pucuk daun teh segar dengan menggunakan pemanasan atau penguapan menggunakan uap panas, yang kemudian dapat mencegah oksidasi enzimatik terhadap katekin. Adapun teh hitam, teh hitam didapat dengan menggunakan proses fermentasi dari oksidasi enzimatik terhadap kandungan katekin teh. Teh oolong didapat dengan proses pemanasan yang dilakukan segera setelah proses penggulungan daun, dengan tujuan untuk menghentikan proses fermentasi, teh ini memiliki karakteristik khusus dibandingkan teh hitam dan teh hijau.

### **C. *Hygiene* Sanitasi Makanan Jajanan**

*Hygiene* dan sanitasi makanan merupakan istilah yang tidak dapat dipisahkan dan memiliki arti berbeda tapi keduanya sangat erat hubungannya. Sanitasi tanpa *hygiene* tidak dapat terwujud dan begitu pula sebaliknya. Oleh karena itu dalam upaya mewujudkan sanitasi, *hygiene* perorangan perlu diterapkan secara simultan dan regular (Alistina, 2019, p. 1).

*Hygiene* ialah upaya kesehatan masyarakat yang khusus meliputi segala usaha untuk melindungi, memelihara dan mempertinggi derajat kesehatan badan dan jiwa, baik untuk umum, maupun untuk perseorangan, dengan tujuan memberi dasar-dasar kelanjutan hidup yang sehat serta mempertinggi kesejahteraan dan dayaguna perikehidupan manusia (Mundiatun and Daryanto, 2018, p. 21).

Sanitasi makanan adalah usaha untuk mengamankan dan menyelamatkan makanan agar tetap bersih, sehat dan aman. Sanitasi makanan yang buruk dapat disebabkan oleh tiga faktor yakni faktor fisik, faktor kimia dan faktor mikrobiologi. Sanitasi makanan ini bertujuan untuk menjamin keamanan dan kemurnian makanan, mencegah konsumen dari penyakit, mencegah penjualan makanan yang akan merugikan pembeli mengurangi kerusakan, atau pemborosan makanan. Sanitasi makanan yang buruk disebabkan oleh faktor mikrobiologi karena adanya kontaminasi oleh bakteri, virus, jamur, dan parasit. Akibat buruknya sanitasi makanan dapat timbul gangguan kesehatan pada orang yang mengonsumsi makanan tersebut (Sumantri, 2010, pp. 160–161).

*Hygiene* sanitasi makanan adalah upaya untuk mengendalikan faktor makanan, orang, tempat dan perlengkapannya yang dapat atau mungkin dapat menimbulkan penyakit atau gangguan kesehatan (Depkes, 2003).

Pentingnya tindakan *hygiene* sanitasi dalam mengolah atau memproduksi makanan, merupakan salah satu upaya untuk menghindari terjadinya pencemaran terhadap hasil produksi makanan. Makanan berkualitas baik merupakan standar utama yang harus dilaksanakan dalam penyediaan makanan serta aman untuk dikonsumsi masyarakat, pengelolaan makanan merupakan hal yang sangat penting untuk dilaksanakan sesuai standar kesehatan, karena makanan dapat menjadi media penularan penyakit (Mundiatun and Daryanto, 2018, p. 127).

Makanan jajanan adalah makanan dan minuman yang diolah oleh pengrajin makanan di tempat penjualan dan atau disajikan sebagai makanan siap santap untuk dijual bagi umum selain yang disajikan jasa boga, rumah makan/restoran, dan hotel (Depkes, 2003).

Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 942/Menkes/SK/VII/2003 tentang Pedoman Persyaratan Higiene Sanitasi Makanan Jajanan, terdapat beberapa aspek yang diatur dalam penanganan makanan jajanan, yaitu penjamah makanan, peralatan, air, bahan makanan, penyajian, sarana penjaja, dan lokasi penjualan. Beberapa aspek tersebut sangat mempengaruhi kualitas makanan.

### **1. Higiene penjamah makanan**

Penjamah makanan jajanan adalah orang yang secara langsung atau tidak langsung berhubungan dengan makanan dan peralatannya sejak dari tahap persiapan, pembersihan, pengolahan, pengangkutan sampai dengan penyajian (Depkes, 2003). Penjamah makanan jajanan dalam melakukan kegiatan pelayanan penanganan makanan jajanan harus memenuhi persyaratan antara lain sebagai berikut:

#### **a. Tidak menderita penyakit mudah menular**

Menurut Kepmenkes RI No. 942/MENKES/SK/VII/2003, salah satu syarat penjamah makanan adalah tidak menderita penyakit menular misalnya batuk, pilek, influenza, diare, penyakit perut sejenisnya.

#### **b. Menutup luka (pada luka terbuka/ bisul atau luka lainnya)**

Seorang penjamah makanan yang mengalami luka pada kulit dan terinfeksi seperti bisul, jerawat, luka atau abrasi dapat menimbulkan risiko tambahan kontaminasi makanan dengan patogen bawaan makanan seperti *Staphylococcus aureus*.

c. Menjaga kebersihan tangan, rambut, kuku, dan pakaian

Dalam menjaga kebersihan, penjamah makanan perlu memperhatikan beberapa hal. Kuku dan tangan yang kotor dapat menyebabkan bahaya kontaminasi dan menimbulkan penyakit-penyakit tertentu. Untuk menghindari bahaya kontaminasi maka harus membersihkan tangan sebelum menjamah makanan, memotong kuku secara teratur, membersihkan lingkungan (Agustiningrum, 2018). Rambut yang panjang harus diikat menggunakan tali rambut atau lebih baik menggunakan penutup kepala berupa topi bersih. Pakaian kotor dapat mencemari makanan jika pakaiannya secara langsung menyentuh makanan atau jika penjamah makanan menyentuh pakaian kotor mereka (misalnya menyeka tangan mereka) dan kemudian menyentuh makanan (FSANZ, 2016).

d. Memakai celemek, dan tutup kepala

Penjamah makanan harus memperhatikan beberapa hal seperti menggunakan celemek atau apron yang bersih dan menutup selalu rambut dengan penutup rambut sehingga mencegah kerontokan rambut / ketombe (Irawan, 2016).

e. Mencuci tangan setiap kali hendak menangani makanan

Untuk penyediaan pangan yang aman dapat dilakukan dengan mencuci tangan dengan benar menggunakan sabun dan air bersih sebelum memasak atau menyiapkan pangan.

f. Menjamah makanan harus memakai alat/perlengkapan

Menggunakan alat atau perlengkapan seperti sarung tangan plastic sekali pakai, penjepit makanan, sendok dan garpu untuk menghindari kontak yang tidak perlu dengan makanan atau minuman yang diolah.



- g. Tidak sambil merokok, menggaruk anggota badan (telinga, hidung, mulut atau bagian lainnya)

Menggaruk-garuk badan, mengorek hidung dan meludah adalah aktivitas yang harus dihindari oleh pekerja kantin selama menangani pangan dan menyajikan makanan (Nuraida et al., 2011).

- h. Tidak batuk atau bersin di hadapan makanan jajanan yang disajikan dan atau tanpa menutup mulut atau hidung

Batuk atau bersin pada seseorang dapat membuat tangannya terkontaminasi oleh hasil ekskresi tubuh yang dapat mengandung patogen dan dapat menyebabkan penyakit bawaan makanan jika pindah kemakanan (FSANZ, 2016).

## **2. Sanitasi peralatan**

Sanitasi Peralatan Peralatan adalah barang yang digunakan untuk penanganan makanan jajanan (Depkes, 2003). Peralatan yang digunakan untuk mengolah dan menyajikan makanan jajanan harus sesuai dengan peruntukannya dan memenuhi persyaratan higiene sanitasi. Oleh karena itu, peralatan harus memenuhi persyaratan higiene sanitasi makanan jajanan sebagai berikut:

- 1) Peralatan yang sudah dipakai dicuci dengan air bersih dan dengan sabun
- 2) Peralatan yang sudah dicuci dikeringkan dengan alat pengering/lap yang bersih
- 3) Peralatan yang sudah bersih disimpan di tempat yang bebas pencemaran
- 4) Tidak menggunakan kembali peralatan yang dirancang hanya untuk sekali pakai

## **3. Sanitasi penyajian**

Makanan jajanan yang disajikan harus dengan tempat/alat perlengkapan yang bersih, dan aman bagi kesehatan. Semua makanan yang disajikan harus

dilindungi dari kontaminasi. Adapun persyaratan sanitasi penyajian makanan jajanan dalam Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 942/MENKES/SK/VII/2003 tentang Pedoman Persyaratan Higiene Sanitasi Makanan Jajanan adalah sebagai berikut:

- a. Makanan jajanan yang dijajakan harus dalam keadaan terbungkus dan tertutup
- b. Pembungkus yang digunakan dan/atau tutup makanan jajanan harus dalam keadaan bersih dan tidak mencemari makanan
- c. Pembungkus makanan yang digunakan tidak ditiup
- d. Makanan jajanan yang diangkut harus dalam keadaan tertutup atau terbungkus dan dalam wadah yang bersih

Menurut Food Standards Australia New Zealand (2016), perlengkapan, peralatan, dan kendaraan yang digunakan untuk mengangkut makanan harus dijaga kebersihannya untuk meminimalkan kemungkinan makanan terkontaminasi dan untuk mencegah hama. Ketika mengangkut makanan, penjaja makanan harus melindungi semua makanan dari kemungkinan kontaminasi. Makanan yang dikemas umumnya terlindungi dari kontaminasi selama pengangkutan oleh kemasannya.

- e. Makanan jajanan yang diangkut harus dalam wadah yang terpisah dengan bahan mentah sehingga terlindungi dari pencemaran

Menurut Food Standards Australia New Zealand (2016), karena makanan tanpa kemasan lebih rentan terhadap kontaminasi, maka dalam proses pengangkutan perlu adanya pemisahan antara makanan siap saji dan makanan mentah seperti misalnya daging mentah untuk menghindari kontaminasi.

- f. Makanan jajanan yang siap disajikan dan telah lebih dari 6 jam masih dalam keadaan baik, harus diolah kembali sebelum disajikan

Makanan jajanan yang siap disajikan dan telah lebih dari 6 jam apabila masih dalam keadaan baik, harus diolah kembali sebelum disajikan.

#### **4. Sanitasi sarana penjaja**

Menurut Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 942/MENKES/SK/VII/2003 tentang Pedoman Persyaratan Higiene Sanitasi Makanan Jajanan, sarana penjaja adalah fasilitas yang digunakan untuk penanganan makanan jajanan baik menetap maupun berpindah-pindah. Adapun persyaratan konstruksi sarana penjaja harus memenuhi berbagai persyaratan antara lain:

- a. Mudah dibersihkan

Bangunan tempat makanan untuk dapat dibersihkan secara efektif sehingga kemungkinan makanan untuk terkontaminasi dapat diperkecil.

- b. Tersedia tempat untuk air bersih, penyimpanan bahan makanan, penyimpanan makanan jadi/siap disajikan, penyimpanan peralatan, tempat cuci (alat, tangan, bahan makanan), dan tempat sampah.

#### **D. Metode *Most Probable Number* (MPN)**

##### **1. Pengertian metode MPN**

*Most Probable Number* (MPN) diartikan sebagai jumlah perkiraan terdekat. Metode MPN sendiri menggunakan medium cair atau padat yang telah dijadikan suspensi dalam wadah berupa tabung reaksi. Penghitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif, yaitu tabung yang mengalami perubahan pada mediumnya, baik berupa perubahan warna atau terbentuknya gelembung gas pada

dasar tabung durham. Pada metode penghitungan MPN, digunakan bentuk tiga seri pengenceran, yaitu  $10^1$ ,  $10^2$  dan  $10^3$ . Kemudian, dari hasil perubahan tersebut dapat dicari nilai MPN pada tabel nilai MPN. Untuk penghitungan jumlah bakteri, digunakan rumus berikut;

$$\text{Bakteri} = \text{nilai MPN} \times 1/\text{pengenceran tengah}$$

## 2. Jenis pengujian dan ragam MPN

Metode MPN adalah metode yang digunakan untuk menghitung coliform di dalam air dengan menggunakan pengujian fermentasi dalam tabung. Tiga pengujian itu diantaranya adalah uji dugaan (*presumptive test*), uji penguat (*confirmed test*) dan uji pelengkap (*completed test*) (Kuswiyanto, 2016, p. 24).

### a. Uji dugaan (*presumptive test*).

Uji ini dilakukan untuk mengetahui ada/tidaknya bakteri *coliform* tanpa mempertimbangkan apakah bakteri tersebut tergolong *coli fecal* atau *coli no-fecal*. Pada uji dugaan ini, air sampel diencerkan terlebih dahulu. Agar hasil yang didapatkan semaksimal mungkin mendekati keadaan alami, pengenceran dilakukan sampai ke nilai tertinggi, umumnya sampai  $10^{-11}$ . Karena dengan pengenceran tertinggi, perhitungan jumlah sel berdasarkan koloni yang tumbuh ataupun dengan pewarnaan memberi hasil yang jauh lebih baik jika dibandingkan dengan cara pengenceran terendah (di bawah  $10^{-3}$ ).

Medium yang digunakan adalah laktosa yang dilengkapi dengan tabung durham dalam posisi terbalik. Langkah selanjutnya adalah menginokulasikan air sampel untuk kemudian diinkubasi selama 1-4 x 24 jam. Setelah masa inkubasi amati timbulnya gas (gelembung udara pada tabung durham) dan asam (media menjadi keruh). Apabila terdapat gas pada bagian dasar tabung berarti dalam

sampel air terdapat bakteri *coliform* jika tidak ada gas, maka sampel tersebut perlu diperiksa lebih lanjut.

b. Uji penguat (*confirmed test*).

Uji ini dikaukan untuk mengetahui apakah bakteri *coliform* yang ditemukan tersebut tergolong *coliform* fekal atau non-fekal. Lanhkah yang dilakukan pada uji ini hampir sama dengan langkah-langkah pada uji dugaan, hanya medium dan suhu inkubasinya saja yang berbeda. Medium yang digunakan adalah BGLB (*Brilliant Green Lactose Bile*). Untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk *coliform* fekal, maka suhu inkubasi yang digunakan adalah 42<sup>0</sup>C.

Setelah masa inkubasi 1x24 jam, teramati timbulnya gas (gelembung pada tabung durham) dan asam (media menjadi keruh). Apabila terdapat gas pada tabung durham, berarti dalam sampel air terdapat bakeri *coliform* fekal. Jika tidak ada gas, maka sampel air tersebut mengandung bakteri *coliform* non-fekal.

c. Uji pelengkap (*completed test*).

Uji ini dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri *coliform* fekal yang terdapat dalam sampel air. Medium yang digunakan dalam uji ini adalah MCA (*MacConkey Agar*). Langkah yang digunakan dalam uji ini adalah menginokulasikan air sampel untuk kemudian menginkubasinya selama 1x24 jam pada suhu 37<sup>0</sup>C. setelah proses inkubasi, amati koloni bakteri yang tumbuh pada permukaan media. Koloni akan berwarna merah merupakan koloni bakteri yang memfermentasikan laktosa, sedangkan koloni yang tidak berwarna merupakan koloni bakteri yang tidak memfermentasikan laktosa. Jadi *coliform* adalah indikator kualitas air. Makin sedikit kandungan *coliform* artinya kualitas air semakin baik (Kuswiyanto, 2016, p. 25,26).

Ada 3 ragam yang biasanya dipakai pada pemeriksaan MPN, yaitu:

1) Ragam 511

- a) 5 tabung yang berisi LB double x 10 ml
- b) 1 tabung yang berisi LB single x 1 ml
- c) 1 tabung yang berisi LB single x 0,1 ml

2) Ragam 555

- a) 5 tabung yang berisi LB double x 10 ml
- b) 5 tabung yang berisi LB single x 1 ml
- c) 5 tabung yang berisi LB single x 0,1 ml

3) Ragam 333

- a) 3 tabung yang berisi LB double x 10 ml
- b) 3 tabung yang berisi LB single x 1 ml
- c) 3 tabung yang berisi LB single x 0,1 ml

**3. Prosedur kerja dalam metode MPN**

a. Alat dan bahan

Alat

- 1) Pipet volume 10 ml steril
- 2) Pipet volume 1 ml steril
- 3) Pipet volume 0,1 ml steril
- 4) Tabung reaksi 20 ml
- 5) Labu erlenmeyer
- 6) Rak tabung
- 7) Ball pipet
- 8) Tabung durham

- 9) Ose
- 10) Incubator
- 11) Korek api
- 12) Lampu Bunsen
- 13) Autoclave

#### Bahan

- 1) LB (*Lactose Broth*)
- 2) BGLB (*Brilliant Green Lactose Bile*)
- 3) Sampel minuman
- 4) EMB (*Eosin Methylene Blue Agar*)
- 5) Air garam fisiologis
- 6) Aquades

#### b. Cara kerja

##### Pembuatan Media BGLB

- 1) Untuk 1 liter aquades 40gr BGLB.
- 2) Timbang 40 gr BGLB, masukkan BGLB yang telah ditimbang ke dalam labu Erlenmeyer.
- 3) Kemudian tuangkan 1 liter aquades ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi LB/BGLB.
- 4) Kemudian panaskan sampai hangat.
- 5) Masukkan BGLB ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi tabung durham secara terbalik.
- 6) Usahakan tidak ada gelembung dalam tabung durham.
- 7) Kemudian tutup dengan kapas, bungkus menggunakan kertas/aluminium foil.

8) Masukkan ke dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama ± 15 menit.

Pembuatan Media LBDS (*Lactose Broth Double Streng*)

- 1) Untuk 1 liter aquades 26 gr LBDS
- 2) Timbang 26 gr LBDS, masukkan LBDS yang telah ditimbang ke dalam labu Erlenmeyer.
- 3) Kemudian tuangkan 1 liter aquades ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi LBDS.
- 4) Masukkan LBDS ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi tabung durham secara terbalik.
- 5) Usahakan tidak ada gelembung dalam tabung durham.
- 6) Kemudian tutup dengan kapas, bungkus menggunakan kertas/aluminium foil.
- 7) Masukkan ke dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama ± 15 menit.

Pembuatan Media LBSS (*Lactose Broth Single Steng*)

- 1) Untuk 1 liter aquades 13 gr LBSS
- 2) Timbang 13 gr LBSS, masukkan LBSS yang telah ditimbang ke dalam labu Erlenmeyer.
- 3) Kemudian tuangkan 1 liter aquades ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi LBSS.
- 4) Masukkan LBSS ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi tabung durham secara terbalik.
- 5) Usahakan tidak ada gelembung dalam tabung durham.
- 6) Kemudian tutup dengan kapas, bungkus menggunakan kertas/aluminium foil.
- 7) Masukkan ke dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama ± 15 menit.



### Pembuatan Media EMB

- 1) Untuk 1 liter aquades 37,5 gr EMB
- 2) Timbang 37,5 gr EMB, masukkan EMB yang telah ditimbang ke dalam labu Erlenmeyer.
- 3) Kemudian tuangkan 1 liter aquades ke dalam labu Erlenmeyer yang telah berisi EMB.
- 4) Kemudian panaskan sampai hangat.
- 5) Masukkan EMB ke dalam cawan petri hingga permukaan tertutup rata kemudian ditutup.
- 6) Masukkan ke dalam autoclave dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama ± 15 menit.

### Pengenceran sampel

- 1) Masukkan 10 ml sampel minuman ke dalam labu Erlenmeyer.
- 2) Tambahkan 90 ml air garam fisiologis
- 3) Kemudian kocok hingga homogen

### Uji dugaan

- 1) Isi rak tabung dengan 5 tabung yang berisi 10 ml LBDS dan 2 tabung berisi 10 ml LBSS.
- 2) Sampel yang telah dihomogenkan diambil 10 ml ke dalam tabung reaksi 1-5 yang berisi LBDS
- 3) Pipet 1 ml sampel ke dalam tabung reaksi ke 6 yang berisi 10 ml LBSS
- 4) Pipet 0,1 ml sampel ke dalam tabung ke 7 yang berisi 10 ml LBSS.
- 5) Kemudian diinkubasi dalam incubator selama 1x24 jam bersuhu 37<sup>0</sup>C
- 6) Jika dalam waktu 24 jam tidak ada gelembung maka diinkubasi lagi selama 24 jam.

- 7) Jika terdapat gelembung dan warna sampel menjadi keruh hasil menunjukkan positif maka dilanjutkan dengan uji penguat.

Uji penguat

- 1) Dalam uji penguat menggunakan media BGLB.
- 2) Setiap sampel yang positif maka ditanam pada 2 tabung BGLB.
- 3) Kemudian sampel yang sudah ditanam tersebut, 1 tabung BGLB diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup>C dan tabung ke 2 diinkubasi pada suhu 44<sup>0</sup>C selama 1 x 24 jam.

Uji pelengkap

- 1) Panaskan ose dengan Bunsen sampai berwarna merah.
- 2) Ose dicelupkan pada BGLB, lalu lakukan penyetryipan ke dalam media EMB dengan cara zig-zag 2-3 ose.
- 3) Pengerjaan dilakukan di dekat Bunsen.
- 4) Media diinkubasi selama 1x24 jam dengan suhu 37<sup>0</sup>C.

## ***E. Escherichia Coli***

### **1. Morfologi dan fisiologi**

*Escherichia coli* (*E. coli*) termasuk dalam family *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini merupakan bakteri Gram-negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran 0,4-0,7µm x 1,4µm, dan mempunyai simpai. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di hamper semua media perbenihan, dapat meragi laktosa, dan bersifat *mikroaerofilik* (Radji, 2010, p. 125).

### **2. Patogenesis dan gejala penyakit**

Infeksi *E. coli* sering kali berupa diare yang disertai darah, kejang perut, demam, dan terkadang dapat menyebabkan gangguan pada ginjal. Infeksi *E. coli* pada beberapa penderita, balita dan orang tua dapat menimbulkan komplikasi

yang disebut dengan sindrom uremik hemolitik. Sekitar 2-7% infeksi *E. coli* menimbulkan komplikasi.

Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh infeksi *E. coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Radji, 2010, p. 127).

### **3. *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi intestine**

#### *a. Escherichia coli enteropatogenik (EPEC)*

Jenis ini merupakan penyebab utama diare pada bayi. EPEC memiliki fibria, toksin tahan terhadap panas (ST), dan toksin yang tidak tahan panas (LT), serta menggunakan *adhesin*, yang dikenal dengan intimin, untuk melekat pada sel mukosa usus. Infeksi EPEC mengakibatkan diare berair yang biasanya dapat sembuh sendiri, tetapi ada juga yang menjadi kronis. Lama diare yang disebabkan oleh EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik (Radji, 2010, p. 127).

#### *b. Escherichia coli enterotoksigenik (ETEC)*

ETEC merupakan bakteri penyebab diare pada anak dan wisatawan yang bepergian ke daerah yang bersanitasi buruk. Oleh karena itu, diare yang disebabkan oleh jenis bakteri ini sering dinamakan diare wisatawan. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia adalah *fimbrial adhesin*. Faktor ini menyebabkan ETEC dapat melekat pada epitel usus halus sehingga biasanya menyebabkan diare tanpa demam. Untuk menghindari diare wisatawan, sangat dianjurkan untuk berhati-hati dalam memilih makanan yang kemungkinan terkontaminasi oleh ETEC (Radji, 2010, p. 127).

c. *Escherichian coli enteroinvasif* (EIEC)

Mekanisme patogenik EIEC mirip dengan pathogenesis infeksi yang disebabkan oleh *Shigella*. EIEC masuk dan berkembang dalam epitel sel-sel kolon sehingga menyebabkan kerusakan pada sel kolon. Gejala klinis yang ditimbulkan oleh infeksi EIEC mirip dengan gejala diare yang disebabkan oleh *Shigella*. Gejala diare biasanya disertai dengan demam (Radji, 2010, p. 128).

d. *Escherichia coli enterohemoragik* (EHEC)

Jenis bakteri ini menghasilkan suatu toksin yang dikenal dengan verotoksin. Nama verotoksin sesuai dengan efek sitotoksik toksin ini pada sel vero, yaitu sel ginjal yang diperoleh dari ginjal monyet Afrika (African green monkey). EHEC dapat menyebabkan colitis berdarah (diare berat yang disertai pendarahan) dan sindrom uremik hemolitik (gagal ginjal akut yang disertai anemia hemolitik mikroangiopatik dan trombositopenia). Banyak kasus colitis berdarah dan komplikasinya dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang sebelum dikonsumsi (Radji, 2010, p. 128).

e. *Escherichia coli enteroagregatif* (EAEC)

Bakteri ini menimbulkan diare akut dan kronis dan merupakan penyebab utama diare pada masyarakat di negara berkembang. EAEC melekat pada sel manusia dengan pola khas dan menyebabkan diare yang tidak berdarah, tidak menginvasi, dan tidak menyebabkan inflamasi pada mukosa intensin. EAEC diperkirakan memproduksi EAST (*entero aggregative ST toxin*), yang merupakan suatu enterotoksin yang tidak tahan panas. Di samping itu, EAEC juga memproduksi hemolisin yang diperkirakan mirip dengan hemolisin yang

diproduksi *E. coli* yang dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (Radji, 2010, p. 128).

#### **4. *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi ekstraintestin**

##### **a. *Escherichia coli uropatogenil* (UPEC)**

UPEC menyebabkan kira-kira 90% infeksi saluran kandung kemih melalui sistitis sampai pielonefritis. Bakteri yang berkolonisasi berasal dari tinja atau daerah perineum saluran urine yang masuk ke dalam kandung kemih. UPEC biasanya menyebabkan infeksi sistitis tanpa gejala serius pada wanita yang saluran intestinnnya telah terinfeksi UPEC sebelumnya. Bakteri yang terdapat pada daerah periureteral tersebut pada akhirnya masuk ke dalam kandung kemih ketika melakukan hubungan seksual. Dengan bantuan *adhesin*, UPEC dapat berkolonisasi pada kandung kemih penderita (Radji, 2010, p. 129).

##### **b. *Escherichia coli meningitis neonates* (NMEC)**

NMEC dapat menyebabkan meningitis pada bayi baru lahir. Bakteri ini dapat menginfeksi 1 dalam 2000-4000 bayi. Perjalanan infeksi biasanya terjadi setelah *E. coli* masuk kedalam pembuluh darah melalui nasofaring atau saluran gastrointestinal dan kemudian masuk ke dalam sel-sel otak. Antigen kapsul K1 dianggap sebagai factor virulensi utama yang menyebabkan meningitis pada bayi. Antigen K1 dapat menghambat fagositosis, reaksi komplemen, dan respon reaksi imunitas hospes. Selain itu, siderofor dan endotoksin juga berperan penting dalam pathogenesis NMEC (Radji, 2010, p. 129).