

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Pangan Hewani**

Pangan merupakan kebutuhan dasar bagi manusia, ketersediaan bahan pangan harus terjamin serta terpenuhi sebagai syarat utama untuk mewujudkan sumber daya manusia (SDM) yang berkualitas. Bahan pangan hewani meliputi susu, telur, daging, ikan serta produk olahan yang bahan dasarnya berasal dari hasil hewani. Bahan pangan hewani memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan dengan bahan pangan nabati. Bahan pangan hewani memiliki daya simpan yang relative lebih pendek daibandingkan dengan bahan pangan nabati apabila dalam keadaan segar (kecuali telur). Pendeknya dari daya simpan ini diakibatkan karena struktur dari jaringan hasil hewan bahan pangan hewani tidak memiliki jaringan pelindung yang kuat dan kokoh seperti hasil tanaman. Bahan pangan hewani bersifat lunak dan lembek sehingga mudah terpenetrasi oleh faktor tekanan luar (Hardja, 2018).

#### **B. Keamanan Pangan**

Keamanan pangan adalah kondisi serta upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan dari cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan serta membahayakan kesehatan manusia oleh karena itu keamanan pangan merupakan salah satu faktor penting dalam penyelenggaraan sistem pangan (BPK Republik Indonesia, 2019). Pada Peraturan Pemerintah Nomor 86 Tahun 2019 terkait Keamanan Pangan, penyelenggaraan keamanan pangan ditujukan agar negara dapat memberikan perlindungan kepada rakyat untuk mengonsumsi pangan yang aman bagi kesehatan dan keselamatan jiwa. Untuk

menjamin pangan yang tersedia di masyarakat aman dikonsumsi, maka diperlukannya penyelenggaraan keamanan pangan dimulai dari tahap produksi sampai ke tangan konsumen. Pada penyelenggaraan keamanan pangan, semua kegiatan atau proses produksi di dalam negeri maupun yang berasal dari impor. Untuk menghasilkan pangan yang aman dikonsumsi harus melalui penerapan persyaratan keamanan pangan.

Tujuan dari keamanan pangan adalah untuk mencegah terjadinya kontaminasi pada makanan dan minuman oleh zat asing baik secara fisik, biologi, maupun kimia sehingga dapat mengurangi potensi terjadinya penyebaran penyakit. Oleh karena itu, diperlukannya pengawasan pangan sebagai wujud dari upaya perlindungan masyarakat terhadap konsumen (Lestari, 2020).

### **C. Daging Ayam**

Daging merupakan komponen pangan yang sangat dibutuhkan manusia. Daging sebagai bahan pangan tentunya harus memiliki nilai sifat fisik dan kimia atau mikrobiologis yang bagus. Semakin bagus sifat – sifat tersebut, maka dapat dipastikan bahwa daging tersebut mempunyai kualitas mutu yang tinggi. Menurut (Direktorat Gizi, Departemen Kesehatan 2010) daging ayam memiliki kandungan protein sebesar 18,20 gram, lemak sebesar 25 gram, serta kalori sebesar 404 Kkal per 100 gram daging ayam. Daging ayam merupakan sumber protein hewani yang berkualitas tinggi, mengandung asam amino esensial yang lengkap dan asam lemak tidak jenuh yang tinggi. Dalam pemilihan daging faktor yang harus dipertimbangkan antara lain adalah warna daging, aroma atau bau daging, tekstur daging dan penampakan daging. Warna daging yang berkualitas adalah memberikan warna daging yang merah terang atau cerah dan mengkilap. Apabila

daging mengalami kemunduran kualitas mutu maka daging akan mengalami perubahan warna dari warna yang merah menjadi warna coklat, hijau bahkan daging tersebut tidak akan memiliki warna berbeda dengan tekstur daging.

Daging yang berkualitas memiliki tekstur yang elastis atau kenyal, memiliki derajat kepadatan, tidak kaku dan kenyal, dan apabila ditekan kembali pada posisi bentuk semula. Selain itu aroma yang ditimbulkan oleh daging segar atau berkualitas bagus adalah berbau khas atau spesifik daging, tidak berbau busuk atau anyir. Dari tingkat kenampakan daging, bahwa daging yang berkualitas tinggi sifatnya adalah tidak kering, tidak berlendir dan tidak lengket dan ada tingkat basah pada daging tersebut (Prayitno dan Hartati, 2020).

Ciri – ciri daging ayam segar menurut (SNI 01-4258-2010), daging ayam memiliki ciri-ciri antara lain:

- 1) Warna daging ayam: berwarna putih kekuningan cerah, tidak gelap, tidak pucat, tidak kebiruan, tidak terlalu merah.
- 2) Warna kulit : berwarna putih kekuningan, cerah mengkilat dan bersih, bila disentuh, daging terasa lembab dan tidak lengket ataupun kering.
- 3) Bau daging : tidak bau menyengat, tidak berbau amis, dan tidak berbau busuk.
- 4) Konsistensi pada otot dada dan paha kenyal, tidak lembek. Pada bagian dalam karkas dan serabut otot berwarna putih agak pucat, pembuluh darah dan sayap kosong (tidak ada sisa darah).

Kelebihan dari daging ayam yakni kandungan gizi yang tinggi, memiliki daging yang empuk, ukuran badan yang besar, bentuk dada lebar, padat berisi, dagingnya lebih tebal, dan mudah didapatkan dipasaran maupun supermarket

dengan harga yang terjangkau. Kekurangannya gizi yang cukup tinggi menjadi tempat yang baik untuk perkembangan mikroorganisme pembusuk yang akan membuat kualitas dari daging menurun sehingga berdampak pada daging ayam yang mudah rusak.

#### **D. Cemaran mikroba**

Daging merupakan media yang sangat baik digunakan bagi pertumbuhan dan perkembangan dari mikroba sehingga menyebabkan bahan pangan sangat mudah untuk rusak. Jenis bakteri patogen yang dapat mengontaminasi makanan termasuk daging ayam salah satunya adalah *Escherichia coli*. Bakteri tersebut dapat terbawa sejak ternak masih hidup. Kontaminasi pada daging berasal dari mikroorganisme yang memasuki peredaran darah pada saat penyembelihan melalui alat-alat yang digunakan. Selain itu, kontaminasi juga dapat terjadi pada saat dilakukannya penjualan.

Pasar tradisional merupakan salah satu pemasaran daging ayam yang dapat menjadi sumber dari terjadinya kontaminasi dan tempat bagi perkembangbiakan mikroba. Hal ini disebabkan dari kurangnya kesadaran pedagang mengenai penanganan daging ayam serta higienitas sehingga daging dapat terkontaminasi oleh mikroba (Nurmasytha, 2020).

#### **E. Faktor Kontaminasi**

Mikroorganisme yang merusak daging dapat berasal dari infeksi ternak hidup dan kontaminasi daging setelah pemotongan. Lingkungan dan kandang yang kotor serta berdebu dan sumber air minum yang terkontaminasi feses mempunyai kandungan *Escherichia coli* hal tersebut disebabkan oleh beberapa faktor yaitu:

konstruksi kandang yang bertingkat sehingga menyebabkan kandang mudah terkontaminasi feces, dan sisa-sisa pakan yang jatuh. Penyebab lain dikarenakan sanitasi kandang yang kurang baik, yang disebabkan oleh tempat minum ternak yang jarang dibersihkan kondisi ini menyebabkan bakteri *Escherichia coli* dapat berkembang dengan baik (Hariyanto, 2018).

*Escherichia coli* yang mencemari daging ayam umumnya berasal dari ruangan, peralatan maupun meja tempat pemotongan ayam, serta air yang digunakan selama proses pemotongan hingga pengolahan daging ayam (Hariyanto, 2018). Pelaksanaan pemotongan dan penanganan yang kurang baik setelah pemotongan ayam dilakukan dapat meningkatkan kontaminasi mikroba dan mengurangi masa simpan.

Ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi kontaminasi yaitu:

1. Faktor Peralatan : Peralatan yang kotor merupakan tempat yang sangat disukai oleh penyakit dan tempat yang nyaman bagi penularan penyakit sehingga bibit penyakit dapat tumbuh dengan baik oleh karena itu pembersihan peralatan sangat penting. Selain peralatan, pekerja juga kontak secara langsung dengan bahan dan berkontribusi terhadap keamanan pangan produk yang dihasilkan. Pekerja harus memenuhi persyaratan hygiene antara lain menggunakan pakaian yang bersih dengan sarung tangan dan mencuci tangan sebelum melakukan pemotongan dan setelah bekerja.
2. Faktor Lingkungan : Lingkungan yang sanitasinya buruk dapat menjadi sumber berbagai penyakit yang dapat mengganggu kesehatan manusia. Pada akhirnya jika kesehatan terganggu, maka kesejahteraannya juga akan

berkurang, upaya sanitasi lingkungan menjadi bagian penting dalam meningkatkan kesejahteraan (Hariyanto, 2018).

3. Faktor pekerja : manusia merupakan sumber yang potensial mikroba dan sumber penyebaran penyakit yang didapatkan saat pekerja mengolah bahan pangan. Cemaran *Escherichia coli* pada pedagang dapat disebabkan oleh faktor sanitasi dan personal hygiene yang tidak dilakukan dengan baik sehingga dapat menyebabkan bakteri mudah mencemari tangan pedagang.

## ***F. Escherichia coli***

### **1. Karakteristik *Escherichia coli***

Genus *Escherichia coli* merupakan bagian dari *Escherichiae* yang termasuk pada famili *Enterobacteriaceae* dan pertama kali diisolasi pada tahun 1885 oleh seorang bakteriologis asal Jerman bernama Theodor Escherich (Manning 2010). *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 1.0-1.5  $\mu\text{m}$  x 2.0-6.0  $\mu\text{m}$ , tidak motil atau motil dengan flagela serta dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, bersifat fakultatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang miskin nutrisi. Bakteri ini dapat bertahan hidup pada rentang suhu 20-4<sup>0</sup>C dengan suhu optimum pada 37<sup>0</sup>C.

Bakteri *Escherichia coli* umumnya hidup di dalam saluran pencernaan manusia atau hewan. Penyakit yang ditimbulkan oleh *Escherichia coli* disebabkan karena kemampuan untuk beradaptasi dan bertahan pada lingkungan yang berbeda. Ada beberapa jenis kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan bagi *Escherichia coli* untuk tetap bertahan misalnya di lingkungan asam (pH rendah) seperti saluran pencernaan manusia, perubahan suhu, serta tekanan osmotik. Kemampuan

*Escherichia coli* untuk bertahan hidup selama pendinginan dan pembekuan telah terbukti menjadikan *Escherichia coli* toleran terhadap kondisi kering.

## 2. Klasifikasi dan morfologi

Klasifikasi menurut (Jawetz dkk., 2004) sebagai berikut :

Domain : *Bacteria*

Kingdom : *Eubacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Class : *Gammaproteobacteria*

Order : *Enterobacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*



(Sumber : Prasiddhanti dkk., 2015)

### **Gambar 1. Bakteri *Escherichia coli* Pengecatan Gram**

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2  $\mu\text{m}$  berdiameter 0,7  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  bersifat anaerob fakultatif. Pada *Escherichia coli* tidak ditemukannya spora, selnya bisa tunggal bisa berpasangan, rantai pendek dan biasanya tidak

berkapsul. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata. Bakteri ini tidak mempunyai nucleus, organel terbungkus membrane maupun sitoskeleton. *Escherichia coli* memiliki organel eksternal yakni pili yang merupakan filament tipis untuk menangkap substrat spesifik dan flagel yang merupakan filament tipis dan lebih panjang untuk berenang. Pembrokian bakteri *Escherichia coli* bersifat aerob atau anaerob fakultatif, pertumbuhan optimum pada suhu 37°C. Bakteri *Escherichia coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang dipergunakan untuk isolasi kuman enteric, sebagian besar strain *Escherichia coli* tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa. *Escherichia coli* juga bersifat aerofilik (Hendrayati, 2012).

### **3. Sifat pertumbuhan *Escherichia coli***

Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh berlebihan apabila mengonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri seperti pada daging mentah, daging yang tidak mengalami proses pengolahan yang sempurna, susu, ataupun feses yang tercemar dalam pangan atau air. Bakteri *Escherichia coli* yang patogen dapat tumbuh pada suhu rendah yaitu sekitar 7°C dan juga suhu tinggi yaitu sekitar 44°C tetapi pertumbuhan *Escherichia coli* lebih optimal pada suhu antara 35°C – 37°C, pH optimum 7-7,5. Selain itu *Escherichia coli* juga dapat hidup pada tempat yang lembab, relative sensitive terhadap panas, dan akan mati dengan pasteurisasi atau proses pemasakan makanan dengan suhu yang relative tinggi.

### **4. Patogenitas *Escherichia coli***

Patogenitas merupakan suatu kemampuan organisme yang menimbulkan penyakit. *Escherichia coli* dapat menimbulkan suatu penyakit apabila mampu



masuk ke tubuh inangnya dan dapat beradaptasi dan bertahan hidup di dalam tubuh manusia dan dapat menyerang system imun dan akhirnya menimbulkan penyakit.

Sifat patogenik *Escherichia coli* dapat dikelompokkan menjadi beberapa jenis berdasarkan dari mekanisme patogenitas, virulensi dan sindrom klinis yang ditimbulkan (Kaper dkk., 2004). *Escherichia coli* dibedakan menjadi enam jenis yaitu :

a. *Enterotoksigenik Escherichia coli* (ETEC)

ETEC merupakan penyebab diare tidak hanya pada manusia tetapi juga pada hewan. Pada saat masuk ke dalam sistem pencernaan, ETEC akan menempel pada sel-sel yang melapisi mukosa usus kecil melalui interaksi yang dimediasi oleh faktor kolonisasi. Faktor ini akan menggambarkan tiga tipe fimbriae yang berbeda dan berperan penting untuk penempelan pada permukaan mukosa usus kecil (Rahayu dkk., 2018).

ETEC biasanya ditularkan melalui rute fecal-oral. Penularan ETEC umumnya diakibatkan dari pangan yang dikonsumsi maupun air pada daerah yang terkontaminasi ETEC dengan konsentrasi yang tinggi. Menurut (Feng, 2015) infeksi ETEC lebih sering diakibatkan dari mengonsumsi air yang telah terkontaminasi serta pangan seperti ketumbar, kol, kecambah dan bayam. Toksikoinfeksi ini umumnya bertanggung jawab terhadap diare yang terjadi pada wisatawan dari negara-negara maju yang menerapkan kebersihan yang baik dan mengunjungi negara-negara yang tingkat kebersihannya yang rendah (Rahayu dk., 2018).

b. *Enteropatogenik Escherichia coli* (EPEC)

EPEC merupakan penyebab dari diare yang cukup parah pada bayi dan dapat berlangsung selama lebih dari 2 minggu dan dapat menyebabkan kematian apabila terjadi dehidrasi yang parah. Pada usia dewasa, penyakit ini akan ditandai dengan diare yang berat, mual, muntah, kram perut, demam, menggigil dan sakit kepala. Waktu untuk menimbulkan penyakit adalah 17 hingga 72 jam dengan durasi penyakit adalah 6 jam sampai 3 hari. EPEC dapat menyebabkan penyakit berkembang pada manusia ketika ditularkan melalui air yang terkontaminasi oleh feses (Rahayu dkk., 2018).

c. *Enterohemoragik Escherichia coli* (EHEC)

EHEC merupakan kelompok *Escherichia coli* yang dapat mengakibatkan diare atau colitis berdarah pada manusia yang dapat menyebabkan sindrom hemolitik uremic. Sindrom HUS merupakan penyebab dari gagal ginjal akut pada anak-anak dan kematian pada dewasa. Sejak tahun 1995 *Escherichia coli* O157:H7 diakui sebagai penyebab dari sindrom HUS dan merupakan serogroup EHEC yang paling sering menginfeksi pada saluran pencernaan dengan persentase sebesar 60-70% (Watahiki dkk., 2014).

Adapun gejala yang dapat ditimbulkan pada saat mengonsumsi makanan yang telah tercemar EHEC yakni ditandai dengan kram perut yang parah, dan diare yang berdarah. Masa inkubasi yang diperlukan umumnya sekitar 3-9 hari. Enterohemoragik *Escherichia coli* ditransmisikan melalui fecal-oral. Pangan yang berasal dari hewan seperti daging, produk susu yang tidak dipasteurisasi maupun sayuran yang telah

terkontaminasi dapat menyebabkan pembawa tranmisi utama penyebaran EHEC pada manusia. (Rahayu dkk., 2018)

d. *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC)

EIEC ditemukan pertama kali pada tahun 1944 yang mulanya disebut “*paracolon bacillus*”. EIEC memiliki sifat non motil, tidak dapat memfermentasi laktosa, dan bersifat anaerogenik. Gejala yang dapat ditimbulkan saat terinfeksi oleh EIEC adalah menggigil, demam, nyeri otot, kram perut dan diare. Penyakit dapat timbul setelah 8 hingga 24 jam setelah mengonsumsi makanan maupun minuman yang telah terkontaminasi EIEC. Penularan EIEC ini biasanya pada air ataupun pangan yang terkontaminasi feses serta penularan *person-to-person* (Rahayu dkk., 2018).

e. *Enteroagregatif Escherichia coli* (EAEC)

EAEC pertama kali diidentifikasi pada tahun 1983 dan diketahui sebagai penyebab penyakit diare pada tahun 1987. (Boisen dkk., 2013). EAEC merupakan penyebab inflamasi karena infeksi. Pada saat terinfeksi oleh EAEC umumnya ditandai dengan diare yang disertai darah serta lender. Penularan EAEC umumnya bersifat fecal-oral dan resiko terjadinya penyebaran infeksi melalui pangan (Rahayu dkk., 2018).

f. *Difusi Adheren Escherichia coli* (DAEC)

Patogenitas DAEC yang telah teridentifikasi ada dua yakni DAEC yang mengekspresikan *adhesin Afa/Dr*, yaitu DAEC yang memiliki struktur fimbrae dan langsung menempel pada sisi spesifik sel inang. Sedangkan kelompok DAEC yang kedua tidak mengekspresikan *Afa/Dr*, tetapi

mengekspresikan *gen aida* menjadi *adhesin* yang terlibat dalam penempelan secara difusi (Rahayu dkk., 2018).

Mekanisme dari DAEC diawali dengan menempelnya Afa dan Dr dengan faktor yang disebut DAF yang dapat ditemukan pada permukaan usus. Penempelan ini menyebabkan agregasi dari molekul DAF di bawah bakteri. Penempelan tersebut juga memicu sinyal pengatur  $Ca^{2+}$ , sehingga terjadi kerusakan mikrovili dan mengakibatkan penurunan kerja enzim yang terlibat dalam proses sekresi dan absorpsi usus, dan akan memicu terjadinya diare (Rahayu dkk., 2018).

## **5. Prevalensi *Escherichia coli* patogen pada pangan**

Pada kasus keracunan pangan yang terjadi baik di Indonesia maupun negara luar selalu dikaitkan dengan konsumsi pangan atau air yang telah terkontaminasi mikroba patogen atau senyawa toksik. *Escherichia coli* patogen merupakan mikroba yang diduga menjadi penyebab terjadinya keracunan yang diawali dengan terjadinya gejala diare. Keracunan pangan bisa terjadi apabila bahan baku telah terkontaminasi sejak awal dan tidak hilang selama proses pengolahan atau bisa disebabkan karena kontaminasi silang pasca pengolahan atau penanganan selama proses distribusi. Bahan baku yang telah terkontaminasi *Escherichia coli* patogen merupakan penyebab *Escherichia coli* pada produk akhir terutama apabila pada proses pengolahan bahan pangan yang dilakukan tidak sesuai sehingga kontaminan tidak mampu hilang. Bahan baku utama yang pernah dilaporkan yaitu susu mentah, daging mentah, serta buah maupun sayuran mentah (Rahayu dkk., 2018).

Tingginya tingkat prevalensi *Escherichia coli* di Indonesia dapat disebabkan oleh proses penanganan bahan pangan hewan yang belum baik. Kontaminasi pada

daging ayam pada umumnya berasal dari ruangan, peralatan maupun tempat pemotongan ayam, serta air yang digunakan dalam proses pemotongan hingga pengolahan daging ayam (Rahayu dkk., 2018).

## **6. Regulasi cemaran *Escherichia coli***

Regulasi terkait keberadaan *Escherichia coli* di Indonesia mengenai keberadaan *Escherichia coli* yang diatur dalam PerKa BPOM NO 16 tahun 2016 mengenai cemaran dalam pangan dan kriteria sampling pada produk olahan daging, daging unggas dan daging hewan buruan dalam bentuk utuh atau potong yang di *curing* ( termasuk penggaraman) tanpa perlakuan panas dengan jumlah sampel yang diambil dan dianalisis sebanyak 5 dan jumlah yang boleh melampaui batas mikroba untuk menentukan keberterimaan suatu produk pangan sebanyak 2 serta batas mikroba 10 koloni/ g. Bakteri *Staphylococcus aureus* jumlah sampel yang diambil dan dianalisis sebanyak 5 dan jumlah yang boleh melampaui batas mikroba untuk menentukan keberterimaan suatu produk pangan sebanyak 1 dan batas cemaran mikroba  $2,5 \times 10^2$  koloni/g. Bakteri *Salmonella* jumlah sampel yang diambil dan dianalisis sebanyak 5 dan jumlah yang boleh melampaui batas mikroba untuk menentukan keberterimaan suatu produk pangan sebanyak 0 dan batas cemaran mikroba harus negatif / 25 g.

*Escherichia coli* adalah salah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif. *Escherichia coli* di alam terbuka hidup di dalam tanah. Jika terjadi pencemaran (umumnya pencemar organik yang ditandai dengan BOD tinggi), tanah menjadi media pertumbuhan yang baik untuk bakteri ini dan menyebabkan peningkatan konsentrasi *Escherichia coli* dalam tanah. Saat hujan turun atau salju mencair, semakin banyak bakteri ini yang terbawa oleh air tanah masuk ke sungai. Dengan

demikian konsentrasi *Escherichia coli* akan terdeteksi tinggi di air tanah dan sungai sehingga mengindikasikan adanya pencemaran tanah (Rahayu dkk., 2018).

## **7. Parameter Mikrobiologi *Escherichia coli***

### **a. Identifikasi *Escherichia coli* metode uji IMViC**

Uji IMViC merupakan cara untuk membedakan sesama mikroba yang termasuk dalam kelompok *Enterobacteriaceae* dengan sasarannya adalah bakteri *Escherichia coli*. Perbedaan anggota kelompok tersebut didasarkan pada proses biokimia dan reaksi enzimatik dari bakteri yang menghasilkan suatu substrat spesifik. Sebagai contoh bakteri *Escherichia coli* sebagai anggota *Enterobacteriaceae* bersifat dapat memfermentasikan laktosa menjadi asam. Hasil uji uji konfirmasi *Escherichia coli* positif jika uji IMViC menunjukkan hasil indol (+), Metil Red (+), Voges Proskauer (-) dan Citrat (-) (Sapitri dan Afrinasari, 2019).

### **b. Angka Kuman**

Kuman adalah organisme yang berukuran kecil seperti virus, jamur, protozoa mikroskopik yang dapat menyebabkan suatu penyakit atau gangguan kesehatan baik dari ringan hingga berat pada tubuh inangnya seperti manusia maupun hewan. Angka kuman adalah perhitungan jumlah bakteri yang didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel bakteri hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah diinkubasi dalam media biakan dan lingkungan yang sesuai. Pemeriksaan angka kuman biasanya dilakukan pada usap alat makan pada tempat penjualan makanan dan hygiene perorangan dalam mengelola kebersihan alat makan. Pemeriksaan angka kuman pada alat makan dilakukan dengan metode *Angka Lempeng*

*Total* (ALT). tingginya angka kuman dapat mengotaminasi makanan yang disajikan pada peralatan tersebut mengingat peralatan sebagai sumber kontaminan makanan yang mneyebabkan makanan tidak aman untuk dikonsumsi (Agustiningrum, 2018).

## **8. Media Identifikasi *Escherichia coli***

### a. Media EMBA

EMBA dikembangkan pertama kali oleh Holt Harris dan Teague pada tahun 1916. EMBA adalah media selektif diferensial untuk bakteri *Escherichia coli* (Utami dkk., 2018). Pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan menginokulasikan pada media selektif yaitu EMBA. Media EMBA merupakan media selektif untuk menumbuhkan bakteri dari anggota genus *Escherichia*. Media EMBA mengandung laktosa, yang apabila dalam biakan terdapat bakteri anggota genus *Escherichia* maka asam yang dihasilkan dari fermentasi laktosa akan menghasilkan warna koloni yang spesifik untuk bakteri anggota genus *Escherichia* yakni koloni yang berwarna hijau dengan kilap logam. Sedangkan *Coliform non fekal* lain yang dapat tumbuh koloninya akan berwarna cokelat yang menunjukkan adanya *Enterobacter aerogenes* ataupun koloni yang tidak berwarna (Sari dkk., 2019).

Adanya *eosin* dan *metilen blue* membantu mempertajam perbedaan tersebut, menjadi indikator memberikan perbedaan yang nyata antara koloni yang meragikan laktosa dan yang tidak. Koloni bakteri *Escherichia coli* tumbuh berwarna merah kehijauan dengan kilat metalik. Hal ini dikarenakan *Escherichia coli* merupakan bakteri fermentasi. Bakteri yang memfermentasi dengan lambat akan menghasilkan koloni berwarna merah muda dalam media

EMBA. Setelah inkubasi selama 24 jam, media EMBA menunjukkan adanya perubahan warna yang disebabkan oleh tumbuhnya bakteri *Escherichia coli* sehingga terjadinya perubahan warna hijau metalik pada media (Dhafin, 2017).

## 9. Uji Biokimia *Escherichia coli*

Pada uji biokimia digunakan untuk mengidentifikasi mikroba secara fisiologis dan berdasarkan dengan reaksi biokimia. Jenis dari pemeriksaan uji biokimia dapat dipengaruhi oleh faktor dari mikroba atau sifat dari mikroba, jenis media yang digunakan, dan faktor lingkungan. Pada penelitian yang dilakukan ini uji biokimia yang digunakan adalah uji biokimia IMVIC. Adapun uji yang dilakukan pada uji biokimia adalah uji *Indole*, *Methyle red*, *Voges-Proskauer* dan *Citrate* (IMVIC) yakni :

### a. Uji indol

Uji indol digunakan bertujuan untuk melihat kemampuan suatu organisme yang mendegradasi *asam amino triptofan* dan menghasilkan *indol*. (Sari dkk., 2019). Asam amino triptofan merupakan komponen asam amino yang dapat ditemukan pada protein sehingga asam amino dengan mudah digunakan oleh mikroorganisme akibat terjadinya penguraian protein. Bakteri tertentu seperti *Escherichia coli* mampu menggunakan *triptofan* sebagai sumber karbon.

*Escherichia coli* menghasilkan *enzim triptofan* yang mengkatalisasikan penguraian gugus indol dari triptofan. Pembentukan indol dari triptofan oleh mikroorganisme dapat diketahui dengan menumbuhkannya dalam media biakan yang kaya dengan triptofan. Penumpukan indol dalam media biakan dapat diketahui dengan dilakukannya penambahan berbagai reagen seperti *reagen kovaks*. Reagen akan bereaksi dengan indol dan menghasilkan senyawa



yang tidak larut dalam air dan berwarna merah seperti cincin pada permukaan media (Lay dan Hastowo, 1994).

Uji indol digunakan untuk mengetahui terbentuknya lapisan (cincin) berwarna merah muda pada permukaan pembiakan setelah penambahan reagen *kovaks*, bakteri yang membentuk indol dari triptofan sebagai sumber karbon. *Asam amino triptofan* merupakan komponen asam amino yang umum terdapat pada protein sehingga *asam amino* dengan mudah dapat digunakan oleh mikroorganisme akibat penguraian protein. Hal ini ditunjukkan pada hasil positif dan menguatkan kemungkinan adanya bakteri *Escherichia coli* karena bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang dapat membentuk indol dari triptofan sebagai sumber karbonnya (Bambang dkk., 2014).

b. Uji MR

Uji MR dilakukan untuk mengetahui terbentuknya asam hasil fermentasi karbohidrat, karena bakteri *Escherichia coli* dapat memfermentasikan karbohidrat (glukosa) dan menghasilkan asam. Adanya asam akan menyebabkan pH media yang awalnya 7 berubah menjadi 4,4 sehingga terbentuknya asam akan dapat diketahui dari warna indikator yaitu terbentuknya warna merah. Pada hasil yang bernilai positif akan ditandai dengan terbentuknya warna merah. Sedangkan pada hasil yang bernilai negatif akan ditandai dengan terbentuknya warna kuning (Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan RI, 2013)

Uji MR digunakan untuk menentukan dari adanya fermentasi asam campuran. *Escherichia coli* memfermentasikan glukosa dan menghasilkan beberapa produk yang bersifat asam sehingga menurunkan pH pada media

pertumbuhannya menjadi 5,0 atau lebih rendah. Dengan penambahan indikator akan dapat menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam (Lay dan Hastowo, 1994).

Uji MR dan uji VP akan saling terkait dalam media kultur yang sama digunakan secara bersamaan untuk melakukan pengujian. Perbedaan mendasar akan terlihat pada saat produk akhir setelah dilakukannya inkubasi pada suhu 37°C selama 1 × 24 jam. Hal tersebut karena *strain fecal* dan *non fecal* dari *Coliform* menunjukkan jalur metabolik yang berbeda dalam medium MR- VP (Diliello, 1992).

#### c. Uji VP

Uji VP merupakan suatu pengujian yang dilakukan untuk mendeteksi *asetoin* dalam kultur bakteri. Pengujian dilakukan dengan penambahan *alpha-naphthol* pada media VP yang telah diinokulasi bakteri. Hasil yang bernilai positif akan menunjukkan terjadinya perubahan warna menjadi merah sedangkan pada hasil yang bernilai negative akan menunjukkan warna kuning-coklat (Sari dkk., 2019).

Uji VP digunakan untuk mengetahui terbentuknya *asetoin*. Bakteri dapat memfermentasi glukosa menjadi *asetoin* melalui jalur fermentasi butanadiol. Dalam suasana basa serta penggojokan yang kuat maka *asetoin* dan butanadiol akan dioksidasi menjadi diasetil. Diasetil akan bereaksi dengan *alpha naftol* (dalam *reagen Barrit*) atau keratin (dalam *reagen O'meara*) yang akan memberikan warna merah. Pada hasil yang bernilai positif ditandai dengan terbentuknya warna merah dan pada hasil yang bernilai negatif akan ditandai dengan terbentuknya warna kuning (Harti, 2017).

Pada Penambahan kalium hidroksida dan larutan *alpha-naphthol* dapat menentukan adanya asetoin. Pada penambahan KOH adanya asetoin ditunjukkan pada perubahan warna menjadi merah muda. Perubahan warna ini akan diperjelas dengan penambahan larutan *alpha-naphthol*. Berdasarkan hal ini tabung dikocok hingga berbuih lalu dibuka tutup tabungnya dan dimiringkan (Lay dan Hastowo,1994).

d. Uji *Citrate*

Uji *Citrate* dilakukan bertujuan untuk mengetahui penggunaan sitrat sebagai satu-satunya karbon dan energi oleh bakteri. Media yang digunakan pada pengujian adalah *Simmon's Citrate Agar* (SC) yang merupakan medium *sintetik* dengan Na sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon, NH<sub>4</sub> sebagai sumber N dan Brom Tyhmol Blue sebagai indikator pH. Mikroba yang menggunakan sitrat akan menghilangkan asam dari medium biakan sehingga terjadi peningkatan pH dan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru (Adityawarman, 2012).

Uji ini digunakan untuk mengetahui apakah pada bakteri dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Dalam media sitrat mengandung indikator *Bromo Thymol Blue* (BTB) dengan pH (6-7,6) sehingga dalam suasana basa media akan berubah yang awal mulanya mempunyai warna hijau berubah menjadi warna biru. Hasil yang bernilai positif ditandai dengan media yang berwarna biru dan hasil yang bernilai negatif ditandai media tetap berwarna hijau (Harti, 2017).

Penggunaan sitrat merupakan salah satu uji dari deretan uji *Indol - MR-VP- Citrate* (IMVIC) yang digunakan dalam pencirian bakteri *Coliform*. Uji

sitrat digunakan untuk melihat kemampuan dari suatu mikroorganisme menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Perubahan warna yang terjadi pada medium dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa mikroorganisme mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon (Lay dan Hastowo, 1994).

Pertumbuhan bakteri yang menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dapat dilihat dari timbulnya kekeruhan dan perubahan warna media. Bakteri *Escherichia coli* dapat menggunakan asetat sebagai sumber karbon, tetapi tidak dapat menggunakan sitrat. Hasil uji yang bernilai positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru sedangkan hasil yang bernilai negatif akan ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan dan media tetap berwarna hijau (Adityawarman, 2012).