

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. *Hygiene* Sanitasi Makanan**

##### **1. Pengertian *hygiene* sanitasi**

*Hygiene* sanitasi adalah upaya untuk mengendalikan faktor risiko terjadinya kontaminasi terhadap makanan, baik yang berasal dari bahan makanan, orang, tempat dan peralatan agar aman dikonsumsi (Kemenkes RI, 2011). *Hygiene* sanitasi yang baik perlu ditunjang oleh kondisi lingkungan dan sarana sanitasi yang baik pula. Sarana tersebut antara lain: tersedianya air bersih yang mencukupi, baik dari segi kuantitas maupun kualitas, pembuangan air limbah yang tertata dengan baik agar tidak menjadi sumber pencemar, tempat pembuangan sampah yang terbuat dari bahan kedap air, mudah dibersihkan, dan mempunyai tutup (Yulia, 2014).

Sanitasi adalah penciptaan atau pemeliharaan kondisi yang mampu mencegah terjadinya kontaminasi makanan atau terjadinya penyakit yang disebabkan oleh makanan. Sanitasi merupakan usaha kongkret dalam mewujudkan kondisi *higienis*. Sanitasi makanan adalah upaya-upaya yang ditujukan untuk kebersihan dan keamanan makanan agar tidak menimbulkan bahaya keracunan dan penyakit pada manusia (Atmoko, 2017).

Jadi dari pengertian di atas bisa disimpulkan bahwa sanitasi adalah suatu usaha pencegahan penyakit yang menitikberatkan kegiatannya kepada usaha-usaha kesehatan lingkungan hidup manusia. Tujuan dari sanitasi yaitu menciptakan atau pemeliharaan kondisi yang mampu mencegah terjadinya kontaminasi makanan atau

terjadinya penyakit yang disebabkan oleh makanan dan usaha dalam mewujudkan kondisi *higienis* (Yulia, 2014).

## **2. Kontaminasi pada makanan**

Kontaminasi atau pencemaran adalah masuknya zat asing ke dalam makanan yang tidak dikehendaki. Terjadinya pencemaran dapat dibagi dalam dua cara, yaitu:

### **a. Pencemaran langsung**

Yaitu adanya pencemaran yang masuk kedalam secara langsung, baik disengaja maupun tidak disengaja. Contoh : masuknya rambut kedalam makanan, penggunaan zat pewarna makanan, dan lainnya.

### **b. Pencemaran silang (*cross contamination*)**

Yaitu pencemaran yang terjadi secara tidak langsung sebagai ketidaktahuan dalam dalam pengolahan makanan. Contoh : makanan yang tercampur dengan peralatan kotor, menggunakan pisau pada pengolahan bahan mentah untuk bahan makanan jadi (makanan yang sudah terolah) (Indraswati, 2016).

Menurut permenkes RI Nomor. 1096/MENKES/PER/VI/2011 tentang *hygiene* sanitasi jasaboga menyatakan bahwa makanan yang dikonsumsi harus *higienis*, sehat, dan aman yaitu terbebas dari cemaran. Cemaran tersebut dibagi menjadi 3, yaitu :

### **a. Cemaran fisik**

Cemaran yang terjadi karena adanya benda-benda fisik seperti rambut, kuku, logam, debu, kerikil, tanah yang terbawa bersama makanna. Pada saat dikonsumsi, benda-benda tersebut ikut tertelan dan menyebabkan luka di saluran pencernaan

b. Cemaran kimia

Cemaran yang disebabkan oleh adanya bahan-bahan kimia berbahaya dalam produk pangan. Bahan-bahan kimia berbahaya tersebut antara lain: cairan pembersih, pestisida, cat, komponen kimia, dari peralatan atau kemasan yang dilepas dan masuk ke bahan pangan, penggunaan bahan berbahaya yang disalahgunakan untuk pangan, yaitu pewarna tekstil (*rhodamin B*, *metanil yellow*) dan pengawet (formalin dan boraks)

c. Cemaran biologi

Cemaran yang mengacu pada keracunan makanan sebagai akibat aktivitas mikroba yang mencemari produk makanan. Makanan merupakan produk yang mudah terkontaminasi oleh mikroba. Cemaran biologi dapat berupa adanya bakteri yang masuk kedalam makanan (Kemenkes RI, 2011).

## **B. Peralatan Makan**

### **1. Pengertian peralatan makan**

Peralatan makan adalah segala macam alat yang digunakan untuk mengolah dan menyajikan makanan dengan ketentuan peralatan makan (Kemenkes RI, 2011). Peralatan makan adalah salah satu faktor yang memegang peran dalam penularan berbagai penyakit, karena alat makan yang tidak bersih yang mengandung banyak mikroorganisme melalui makanan. Peralatan makan dapat terkontaminasi lewat udara, misalnya debu, sehingga peralatan makan tersebut memiliki potensi terkena mikroorganisme. Dengan adanya mikroorganisme pada peralatan makan dapat menimbulkan penyakit seperti diare, kolera, desentri, basiler, kecacingan atau bahkan keracunan makanan (Haderiah, dkk, 2015).

Kebersihan alat makan merupakan bagian yang sangat penting dan berpengaruh terhadap kualitas makanan dan minuman. Alat makan yang tidak dicuci dengan bersih dapat menyebabkan organisme atau bibit penyakit yang tertinggal akan berkembang biak dan mencemari makanan yang akan diletakkan di atasnya (Kumalasari, 2013). Semua peralatan makanan yang mempunyai peluang bersentuhan dengan makanan harus selalu dijaga dalam keadaan bersih dan tidak ada sisa makanan yang tertinggal pada bagian-bagian alat makan tersebut. Apabila hal tersebut dibiarkan, akan memberi kesempatan kuman yang tidak dikehendaki untuk berkembang biak dan membusukkan makanan (Tumelap, 2011).

Kebersihan peralatan makanan yang kurang baik akan mempunyai peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangbiakan kuman, penyebaran penyakit dan keracunan, untuk itu peralatan makanan haruslah dijaga terus tingkat kebersihannya supaya terhindar dari kontaminasi kuman patogen serta cemaran zat lainnya (Agung, 2015). Terjadinya kontaminasi makanan oleh bakteri melalui kontaminasi peralatan yang tidak bersih dapat mempengaruhi kualitas makanan. Peralatan makan adalah segala macam alat yang digunakan untuk mengolah dan menyajikan makanan dengan ketentuan peralatan makan yaitu:

- a. Cara pencucian, pengeringan dan penyimpanan peralatan memenuhi persyaratan agar selalu dalam keadaan bersih sebelum digunakan.
- b. Peralatan dalam keadaan baik dan utuh.
- c. Peralatan makan dan minum tidak boleh mengandung angka kuman yang melebihi nilai ambang batas yang ditentukan.
- d. Permukaan alat yang kontak langsung dengan makanan tidak ada sudut mati dan halus.

- e. Peralatan yang kontak langsung dengan makanan tidak mengandung zat beracun (Tumelap, 2011).

## **2. Jenis alat makan**

### **a. Piring**

Piring merupakan alat atau wadah berbentuk bundar, pipih dan sedikit cekung atau ceper, terbuat dari porselen, seng, plastik, melamin dan lain-lain. Piring digunakan untuk meletakkan nasi yang hendak dimakan atau tempat lauk pauk.

### **b. Gelas**

Gelas adalah tempat untuk minum, umumnya berbentuk tabung, tetapi ada pula yang memiliki bentuk beragam tergantung pada minuman yang disajikan. Umumnya gelas terbuat dari kaca atau plastik

### **c. Sendok**

Sendok adalah alat yang dipergunakan untuk menyendok, sebagai pengganti tangan dalam mengambil hidangan. Sendok terbuat dari plastik, kayu, melamin, kaca, aluminium, dan stainless.

### **d. Garpu**

Garpu adalah alat yang terbuat dari bahan logam anti karat. Garpu memiliki bentuk yang ujungnya menjari, runcing dan tajam. Garpu umumnya digunakan untuk mengambil daging dari proses pengolahan (Karina dan Titi, 2017).

## **3. Persyaratan peralatan makan**

Sanitasi peralatan makan diperlukan untuk menunjang *hygiene* sanitasi makanan dan minuman agar tidak terkontaminasi dengan kuman ataupun bahan pencemar lainnya sebagaimana yang telah dijelaskan dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1096/MENKES/PER/VI/2011 tentang

*Hygiene* Sanitasi Jasa Boga. Persyaratan peralatan dapat mencakup hal-hal di bawah ini:

- a. Peralatan yang kontak dengan makanan
  - Peralatan masak dan peralatan makan harus terbuat dari bahan tara pangan (*food grade*) yaitu peralatan yang aman dan tidak berbahaya bagi kesehatan.
  - Lapisan permukaan peralatan tidak larut dalam suasana asam/basa atau garam yang lazim terdapat dalam makanan dan tidak mengeluarkan bahan berbahaya dan logam berat beracun seperti: timah hitam (Pb), *arsenikum* (As), tembaga (Cu), seng (Zn), *cadmium* (Cd), *antimon* (Stibium).
  - Talenan terbuat dari bahan selain kayu, kuat dan tidak melepas bahan beracun.
  - Perlengkapan pengolahan seperti kompor, tabung gas, lampu, kipas angin harus bersih, kuat dan berfungsi dengan baik, tidak menjadi sumber pencemaran dan tidak menyebabkan sumber bencana (kecelakaan).
- b. Wadah penyimpanan makanan
  - Wadah yang digunakan harus mempunyai tutup yang dapat menutup sempurna dan dapat mengeluarkan udara panas dari makanan untuk mencegah pengembunan (kondensasi).
  - Terpisah untuk setiap jenis makanan, makanan jadi/masak serta makanan basah dan kering.
- c. Peralatan bersih yang siap pakai tidak boleh dipegang di bagian yang kontak langsung dengan makanan atau yang menempel di mulut.
- d. Kebersihan peralatan harus tidak boleh mengandung koloni dan tidak boleh terdapat kuman *Eschericia coli* (*E.coli*) dan kuman lainnya.
- e. Keadaan peralatan harus utuh, tidak cacat, tidak retak, dan mudah dibersihkan.

- f. Persiapan pengolahan harus dilakukan dengan menyiapkan semua peralatan yang akan digunakan dan bahan makanan yang akan diolah sesuai urutan prioritas.
- g. Pengaturan suhu dan waktu perlu diperhatikan karena setiap bahan makanan mempunyai waktu kematangan yang berbeda. Suhu pengolahan minimal 90°C agar kuman patogen mati dan tidak boleh terlalu lama agar kandungan zat gizi tidak hilang akibat penguapan.
- h. Prioritas dalam memasak
- Dahulukan memasak makanan yang tahan lama seperti goreng-gorengan yang kering
  - Makanan rawan seperti makanan berkuah dimasak paling akhir
  - Simpan bahan makanan yang belum waktunya dimasak pada kulkas/lemari es. Simpan makanan jadi/masak yang belum waktunya dihidangkan dalam keadaan panas
  - Perhatikan uap makanan jangan sampai masuk ke dalam makanan karena akan menyebabkan kontaminasi ulang
  - Tidak menjamah makanan jadi/masak dengan tangan tetapi harus menggunakan alat seperti penjepit atau sendok
  - Mencicipi makanan menggunakan sendok khusus yang selalu dicuci
- i. *Hygiene* penanganan makanan
- Memperlakukan makanan secara hati-hati dan seksama sesuai dengan prinsip *higiene* sanitasi makanan

- Menempatkan makanan dalam wadah tertutup dan menghindari penempatan makanan terbuka dengan tumpang tindih karena akan mengotori makanan dalam wadah di bawahnya (Kemenkes RI, 2011).

#### **4. Pencucian peralatan makan**

##### **a. Fungsi pencucian peralatan makan**

Maksud dari pencucian alat makan dan alat masak dengan menggunakan sarana dan teknis pencucian dapat diuraikan sebagai berikut:

##### **1) Untuk menghilangkan kotoran kasar, dilakukan dengan cara:**

- Pemakaian sabun, tapas atau abu gosok, agar kotoran keras yang menempel dapat dilepaskan dari peralatan.
- Penggunaan air bertekanan tinggi 15 (psi) dimaksudkan agar dengan tekanan air yang kuat dapat membantu melepaskan kotoran yang melekat.

##### **2) Untuk menghilangkan lemak dan minyak, dilakukan dengan :**

- Direndam dalam air panas (60°C) sampai larut dan segera dicuci, jangan sampai dibiarkan kembali dingin, karena lemak akan kembali membeku.
- Direndam dengan larutan detergent dan bukan sabun, karena sabun tidak melarutkan lemak.

##### **3) Menghilangkan bau (amis, bau ikan dan sebagainya) dilakukan dengan cara:**

- Melarutkan dengan air panas perasan jeruk nipis (lemon) dalam larutan pencuci (asam jeruk untuk melarutkan lemak).
- Menggunakan abu gosok, arang, atau kapur yang mempunyai daya deodorant (anti bau).
- Menggunakan *deterjent* yang baik (lemak yang larut akan melarutkan bau amis).

4) Melakukan tindak *sanitizing/desinfeksi* untuk membebaskan hama, dengan cara-cara sebagai berikut:

- Direndam dalam air panas dengan suhu : 80°C selama 2 menit dan 100°C selama 1 menit
- Direndam dalam air mengandung chlor 50 ppm selama 2 menit atau air yang dibubuhi kaporit 2 (dua) sendok makan dalam 100 liter air
- Ditempatkan pada sinar matahari sampai kering atau ditempatkan pada oven penyimpanan piring

5) Pengeringan peralatan yang telah selesai dicuci, dapat dilakukan dengan menggunakan:

- Handuk khusus yang bersih dan tidak menimbulkan pengotoran ulang
- Lap bersih sekali pakai yang tidak menimbulkan bekas
- Ditiriskan sampai kering dengan sendirinya (Amaliyah, 2017).

b. Syarat pencucian peralatan makan

Berdasarkan Permenkes RI No. 1096/MENKES/PER/IV/2011 tentang *hygiene* sanitasi jasaboga, persyaratan tempat pencucian peralatan dan bahan makanan sebagai berikut:

- Tersedia tempat pencucian peralatan, jika memungkinkan terpisah dari tempat pencucian bahan pangan.
- Pencucian peralatan harus menggunakan bahan pembersih/ deterjen.
- Pencucian bahan makanan yang tidak dimasak atau dimakan mentah harus dicuci dengan menggunakan larutan *kalium permanganat* (KMnO<sub>4</sub>) dengan konsentrasi 0,02% selama 2 menit atau larutan kaporit dengan konsentrasi 70%

selama 2 menit atau dicelupkan ke dalam air mendidih (suhu 80°C -100°C) selama 1 – 5 detik.

- Peralatan dan bahan makanan yang telah dibersihkan disimpan dalam tempat yang terlindung dari pencemaran serangga, tikus dan hewan lainnya (Kemenkes RI, 2011).

c. Teknik pencucian peralatan makan

Tahapan-tahapan pencucian yang perlu diikuti agar hasil pencucian sehat dan aman sebagai berikut:

- *Scrapping* (membuang sisa kotoran)

Yaitu memisahkan sisa kotoran dan sisa-sisa makanan yang terdapat pada peralatan yang akan dicuci, seperti sisa makanan di atas piring, mangkuk, sendok, garpu dan lain-lain. Kotoran tersebut dikumpulkan ditempat sampah (kantong plastik) selanjutnya diikat dan dibuang di tempat sampah kedap air (drum/tong plastik tertutup).

- *Flusing* (merendam dalam air)

Yaitu mengguayur air kedalam peralatan yang akan dicuci sehingga terendam seluruh permukaan peralatan. Sebelum peralatan yang akan dicuci telah dibersihkan dari sisa makan dan ditempatkan dalam bak yang tersedia, sehingga perendaman dapat berlangsung sempurna.

- *Washing* (mencuci dengan detergen)

Yaitu mencuci peralatan dengan cara menggosok dan melarutkan sisa makanan dengan zat pencuci atau detergen. *Detergent* yang baik yaitu terdiri dari *detergent* cair atau bubuk, karena detergen sangat mudah larut dalam air, sehingga sedikit kemungkinan membekas pada alat yang dicuci.

- *Rinsing* (membilas dengan air bersih)

Yaitu mencuci peralatan yang telah digosok detergen sampai bersih dengan cara dibilas dengan air bersih. Pada tahap ini penggunaan air harus banyak, mengalir dan selalu diganti. Setiap peralatan yang dibersihkan dibilas dengan cara mengosok-gosok dengan tangan sampai terasa kesat, tidak licin. Bila mana masih terasa licin berarti pada peralatan tersebut masih menempel sisa-sisa lemak atau sisa-sisa detergen dan kemungkinan mengandung bau amis atau anyir.

- *Sanitizing/Desinfection* (membebaskan hamakan)

Yaitu untuk membebaskan hamakan peralatan setelah proses pencucian. Peralatan yang selesai dicuci perlu dijamin aman dari mikroba dengan cara sanitasi atau yang dikenal dengan istilah desinfeksi. Cara desinfeksi yang umum dilakukan yaitu :

- Dengan rendaman air panas 100°C selama 2 menit
- Dengan larutan klor aktif (50 ppm) selama 2 menit
- Dengan udara panas (oven)
- Dengan sinar ultraviolet (sinar matahari pagi jam 9 sampai jam 11) atau peralatan elektrik yang menghasilkan sinar ultraviolet.
- Dengan uap panas (stem) yang biasanya terdapat pada mesin cucipiring.

- *Toweling* (mengeringkan)

Yaitu mengusap kain lap bersih atau mengeringkan dengan menggunakan kain atau handuk dengan maksud untuk menghilangkan sisa-sisa kotoran yang mungkin masih menempel sebagai akibat proses pencucian seperti noda detergen, noda klor dan sebagainya. Prinsip penggunaan lap pada alat yang sudah dicuci bersih sebenarnya tidak boleh dilakukan, karena akan terjadi pencemaran sekunder. *Toweling* ini dapat dilakukan dengan syarat bahwa lap yang digunakan harus steril

serta sering diganti. Penggunaan lap yang paling baik adalah yang sekali pakai (*single use*) (Amaliyah, 2017).

## **5. Penyimpanan peralatan makan**

Persyaratan *hygiene* sanitasi rumah makan dan restoran, pengeringan peralatan harus memenuhi ketentuan dimana peralatan yang sudah di desinfeksi harus ditiriskan pada rak-rak anti karat sampai kering sendiri dengan bantuan sinar matahari atau sinar buatan/mesin dan tidak boleh dilap dengan kain. Serta penyimpanan peralatan harus memenuhi ketentuan:

- a. Semua peralatan yang kontak dengan makanan harus disimpan dalam keadaan kering dan bersih.
- b. Cangkir, mangkok, gelas dan sejenisnya cara penyimpanannya harus dibalik.
- c. Rak-rak penyimpanan peralatan dibuat anti karat, rata dan tidak rusak.
- d. Laci penyimpanan peralatan terpelihara kebersihannya.
- e. Ruang penyimpanan peralatan tidak lembab, terlindung dari sumber pengotoran/kontaminasi dan binatang perusak (Budon, 2013)

## **C. Angka Kuman**

### **1. Pengertian angka kuman**

Angka kuman adalah jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per mililiter contoh yang ditentukan melalui metode standar dan ditumbuhkan pada suatu media (Badan Standarisasi Nasional, 2009) . Angka kuman dapat diartikan sebagai perhitungan jumlah bakteri yang didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel bakteri hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah diinkubasikan dalam media biakan dan lingkungan yang sesuai. Setelah masa

inkubasi jumlah koloni yang yang tumbuh dihitung dari hasil perhitungan tersebut merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah dalam suspensi tersebut. Angka kuman alat makan ini digunakan sebagai indikator kebersihan peralatan makan yang telah dicuci (Amaliyah, 2017).

Berdasarkan persyaratan yang terdapat dalam PERMENKES No. 1096/MENKES/PER/VI/2011 tentang *hygiene* sanitasi jasaboga menyatakan bahwa batasan maksimum kuman yang terdapat pada alat makan adalah 0. Hal tersebut berarti alat makan yang digunakan pada rumah makan tidak boleh mengandung kuman (Kemenkes RI, 2011).

## **2. Cara mengukur jumlah jasad renik**

Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk mengukur atau menghitung jumlah jasad renik, yaitu:

- a. Perhitungan jumlah sel, antara lain: hitungan mikroskopik, hitungan cawan, *Most Probable Number (MPN)*.
- b. Perhitungan massa sel secara langsung, antara lain: cara volumetrik, cara gravimetrik, turbidimetri (kekeruhan).
- c. Perhitungan massa sel secara tidak langsung, antara lain: analisis komponen sel (protein, ADN, ATP), analisis produk katabolisme (metabolit primer, metabolit sekunder, panas), analisis konsumsi nutrien (karbon, nitrogen, oksigen, asam amino, mineral, dan sebagainya) (Deviyanti, 2015).

Menurut (Waluyo, 2016), adapun cara hitungan mikroskopik adalah sebagai berikut :

a. Metode *petroff- Hauser*

Dalam metode ini, hitungan mikroskopik dilakukan dengan pertolongan kotak-kotak skala, dimana dalam setiap ukuran skala seluas satu mm<sup>2</sup> terdapat 25 buah kotak besar dengan luas 0,04 mm<sup>2</sup>, dan setiap kotak besar terdiri dari 16 kotak-kotak kecil. Tinggi sampel yang terletak diantara kaca benda dan kaca penutup adalah 0,02 mm. Jumlah sel dalam beberapa kotak besar dapat dihitung, kemudian dihitung jumlah sel rata-rata dalam kotak besar. Jumlah sel per ml sampel dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{Jumlah sel per ml sampel} = \text{Jumlah sel per kotak besar} \times 1,25 \times 10^6$$

Misalnya: Didapatkan jumlah mikroba yang mau dihitung 12 sel mikroba, maka jumlah sel per sampel adalah:  $12 \times 1,25 \times 10^6 = 1,5 \times 10^7$  sel/ml. Hitungan mikroskopik merupakan metode yang cepat dan murah, tetapi mempunyai kelemahan sebagai berikut:

- Sel-sel mikroba yang telah mati tidak dapat dibedakan dari sel yang hidup. Karena itu keduanya terhitung.
- Sel-sel yang berukuran kecil sukar dilihat di bawah mikroskop, sehingga kalau tidak teliti tidak terhitung.
- Untuk mempertinggi ketelitian, jumlah sel di dalam suspensi harus cukup tinggi, minimal untuk bakteri  $10^6$  sel/ml. Hal ini disebabkan dalam setiap bidang pandang yang diamati harus terdapat sejumlah sel yang dapat dihitung.

- Tidak dapat digunakan untuk menghitung sel mikroba di dalam bahan yang banyak mengandung debris atau ekstrak makanan, karena hal tersebut akan mengganggu dalam perhitungan sel.

b. Metode *Breed*

Hitungan mikroskopik dengan metode *breed* sering digunakan untuk menganalisis susu yang diperoleh dari sapi yang terkena mastitis, yakni suatu penyakit infeksi yang menyerang kelenjar susu sapi. Cara ini merupakan suatu cara cepat, yaitu menghitung bakteri langsung dengan menggunakan mikroskop. Metode *breed* memiliki kelemahan yakni tidak dapat dilakukan terhadap susu yang dipasteurisasi karena secara mikroskopik tidak dapat dibedakan antara sel-sel bakteri yang masih hidup atau yang telah mati karena perlakuan pasteurisasi. Dalam metode *breed*, luas areal pandang mikroskop yang akan digunakan harus dihitung terlebih dahulu. Hal ini dapat dilakukan dengan cara mengukur diameter areal pandang dengan menggunakan mikrometer yang dapat dilihat melalui lensa minyak emersi. Mikrometer yang digunakan adalah *micrometer* gelas. Obyek yang mempunyai skala terkecil 0,01 mm. Areal pandang mikroskop biasanya mempunyai ukuran 14-16 skala atau 0,14-0,16 mm, tetapi ada beberapa mikroskop mempunyai ukuran diameter areal pandang lebih dari 0,18 mm. Luas areal pandang mikroskop dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Luas areal pandang mikroskop} = \pi r^2 \text{ mm}^2 = \frac{\pi r^2}{100} \text{ cm}^2$$

dimana, r = jari-jari (mm) areal pandang. Karena sampel susu disebarkan pada kaca benda seluas satu cm<sup>2</sup> sebanyak 0,01 ml, maka:

$$\text{Jumlah susu per areal pandang mikroskop} = \frac{\pi r^2}{100} \times 0,01 \text{ ml}$$

$$\text{Jumlah bakteri per ml} = \frac{10000}{\pi r^2} \times \text{jumlah bakteri per areal pandang}$$

Dengan kata lain, untuk mendapatkan satu ml sampel susu dapat diperoleh dari 10.000/pr<sup>2</sup> disebut juga faktor mikroskopik (FM), dan dapat digunakan untuk mengubah jumlah bakteri per areal pandang mikroskop menjadi jumlah bakteri/ml.

Jumlah bakteri per areal pandang mikroskop dihitung dari rata-rata pengamatan areal pandang. Jumlah areal pandang yang harus diamati tergantung dari jumlah rata-rata bakteri per areal pandang, dan ditentukan sebagai berikut:

**Tabel 1**  
**Jumlah Bakteri Per Areal Pandang**

Jumlah rata-rata bakteri per areal pandang	Jumlah areal pandang yang harus diamati
<0,5	50
0,5-1	25
1-10	10
10-30	5
>30	Dilaporkan sebagai TBUD (terlalu banyak untuk dihitung)

(Sumber : Waluyo. Mikrobiologi Umum.2016)

c. Metode hitung cawan

Prinsip dari metode 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:

- Hanya sel mikroba yang hidup yang dapat dihitung.

- Beberapa jasad renik dapat dihitung sekaligus.
- Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi mikroba, karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari mikroba yang mempunyai penampakan spesifik.

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

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

Dalam metode hitung cawan, bahan yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel mikroba per ml atau per gram atau per cm (jika pengambilan sampel dilakukan pada permukaan), memerlukan perlakuan pengenceran sebelumnya ditumbuhkan pada medium agar di dalam cawan petri. Setelah inkubasi, akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung, di mana jumlah yang terbaik adalah di antara 30 sampai 300. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal, yaitu 1:10, 1:100, 1:1000, dan seterusnya. Larutan yang digunakan untuk pengenceran dapat berupa larutan *buffer fosfat*, 0,85%, NaCl atau larutan ringer.

Metode hitungan cawan dibedakan atas dua cara, yakni metode tuang (*pour plate*) dan metode permukaan (*surface /spread plate*). Pada metode tuang, sejumlah sampel (1 ml atau 0,1 ml) dari pengenceran yang dikehendaki dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambah agar cair steril yang telah didinginkan (47-50°C) sebanyak 15-20 ml dan digoyangkan supaya sampelnya menyebar. Pada pemupukan dengan metode permukaan, terlebih dahulu dibuat agar cawan kemudian 0,1 ml sampel yang telah diencerkan dipipet pada permukaan agar tersebut. Kemudian diratakan dengan batang gelas melengkung yang steril. Laporan dari hasil menghitung dengan cara hitungan cawan menggunakan standar yang disebut *Standard Plate Counts* sebagai berikut:

- Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30-300 koloni
- Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan satu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan dapat dihitung sebagai satu koloni.
- Satu deretan rantai koloni yang terlihat sebagai suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Dalam *Standart Plate Counts* ditentukan cara perhitungan koloni sebagai berikut:

- 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.

- Jika pada semua pengenceran dihasilkan lebih dari 300 koloni pada cawan petri, berarti pengenceran yang dilakukan terlalu rendah. Karena itu, jumlah koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung. Hasilnya dilaporkan sebagai lebih dari 300 dikalikan dengan faktor pengenceran tetapi jumlah sebenarnya harus dicantumkan di dalam tanda kurung.
- Jika jumlah cawan dari dua tingkat pengenceran dihasilkan koloni dari jumlah antara 30 dan 300, dan perbandingan 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 dua, yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.
- Jika digunakan dua cawan petri (duplo) per pengenceran, data yang diambil hari dari kedua cawan tersebut, tidak boleh dari satu. Oleh karena itu, harus dipilih tingkat pengenceran yang menghasilkan kedua cawan duplo dengan koloni antara 30-300 (Waluyo, 2016).

d. Metode *Most Probable Number (MPN)*

Metode hitungan cawan dengan menggunakan medium padat, tetapi pada metode MPN dengan menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi. Perhitungan MPN berdasarkan pada jumlah tabung reaksi yang positif, yakni yang ditumbuhi oleh mikroba setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung positif yang dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan atau terbentuknya gas di dalam tabung kecil (tabung Durham) yang diletakkan pada posisi terbalik, yaitu untuk jasad renik yang membentuk gas. Untuk setiap pengenceran pada umumnya dengan menggunakan tiga atau lima seri tabung. Lebih

banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi, tetapi atal gelas (tabung reaksi) yang digunakan juga lebih banyak (Waluyo, 2016).

### **3. Faktor-faktor yang mempengaruhi keberadaan angka kuman pada peralatan makan**

#### **a. Air pencucian**

Kontaminasi kuman pada pangan dan peralatan makan biasanya berasal dari kontaminasi air cucian yang digunakan. Hal ini dikarenakan air yang digunakan untuk mencuci peralatan makan yaitu air yang tidak mengalir, dalam mencuci peralatan makan air harus banyak dan cukup, menggunakan air yang mengalir dan selalu diganti setiap kali untuk mencegah sisa-sisa kotoran dari peralatan makan.

#### **b. Teknik pencucian**

Teknik pencucian yang salah dapat mengakibatkan resiko tercemarnya makanan oleh bakteri mikroorganisme, karena tidak memperhatikan proses pencucian peralatan makan pencucian tidak dilakukan dengan air yang mengalir, serta tidak ada air pergantian bilasan lagi sehingga air bilasan tersebut menjadi kotor.

#### **c. Kondisi peralatan makan**

Kondisi awal peralatan makan adalah kondisi awal dimana piring tersebut belum dibersihkan, sehingga masih terdapat kotoran yang menempel pada peralatan makan tersebut. Kotoran yang dapat menempel pada peralatan tersebut antara lain karbohidrat (nasi, sayuran, kentang), lemak/minyak (antara lain sisa-sisa margarin dan mentega), protein (sisa daging, ikan, telur), serta mineral, susu, dan endapan kerak sehingga dapat menjadi tempat berkembang biaknya kuman, semakin lama piring tersebut belum dicuci maka akan semakin tinggi angka kuman yang ada pada peralatan makan tersebut.

d. Pengeringan peralatan makan

Peralatan yang sudah didesinfeksi harus ditiriskan pada rak-rak anti karat sampai kering dengan bantuan sinar matahari atau sinar buatan dan tidak boleh dibersihkan menggunakan kain lap karena akan terjadi kontaminasi. Peralatan makan yang melebihi baku mutu dapat disebabkan (mangkok, piring, sendok) yang telah dicuci langsung dikeringkan dengan kain lap, walaupun kain lap tersebut dimungkinkan masih banyak terdapat kuman yang akan menempel pada peralatan makan tersebut. Prinsip penggunaan lap pada peralatan makan yang telah dicuci bersih sebenarnya tidak boleh dilakukan karena akan terjadi pencemaran oleh kuman. *Toweling* dapat dilakukan dengan syarat bahwa lap yang digunakan harus steril dan sering diganti, penggunaan lap yang paling baik adalah sekali pakai (*single use*). Pengeringan peralatan makan, cara pengeringan alat makan, yaitu : alamiah, diletakkan dalam rak makan, *towelling*, menggunakan mesin pengering

e. Penyimpanan peralatan makan

Penyimpanan peralatan makan pada tempat yang lembab dan terbuat dari bahan yang mudah berkarat, tidak rata, dan tidak mudah dibersihkan serta dengan keadaan basah akan menimbulkan kontaminasi terhadap peralatan makan tersebut (Agustiningrum, 2018).