

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Minuman jajanan

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. Sebelum makanan jajanan disajikan terlebih dahulu mengalami proses pengolahan yang lazim disebut dengan proses penanganan makanan jajanan. Penanganan makanan jajanan adalah kegiatan yang meliputi pengadaan, penerimaan bahan makanan, pencucian, peracikan, pembuatan, pengubahan bentuk, pewadahan, penyimpanan, pengangkutan, dan penyajian makanan atau minuman (Damanik, 2010).

B. Kontaminasi minuman jajanan dengan bakteri patogen

Kontaminasi atau pencemaran adalah masuknya zat asing ke dalam makanan yang tidak dikehendaki atau diinginkan. Kontaminasi dikelompokkan ke dalam tiga macam yaitu,

a. Kontaminasi fisik

Kontaminasi fisik pada produk pangan umumnya berupa kotoran seperti: pasir/batu, serangga, rambut, dll. Kontaminasi ini dapat terjadi di unit produksi sampai pada unit pengolahan. Meskipun kontaminasi fisik tersebut tidak berbahaya, ada kemungkinan membawa bahan berbahaya atau mencerminkan adanya penanganan yang tidak bersih.

b. Kontaminasi mikrobiologis

Pembatasan kontaminasi mikrobiologis terutama ditujukan untuk jenis mikroba patogen, misalnya salmonella, vibrio dan lain-lain. Jenis mikroba lainnya, seperti mikroba usus juga merupakan indikator bahwa suatu produk yang ditemukan mikroba sejenis tersebut terkontaminasi feses dan tidak layak dikonsumsi atau mungkin membawa mikroba patogen lainnya

c. Kontaminasi bahan kimia

Kontaminasi bahan kimia yang banyak terdapat pada produk sayuran dan buah-buahan adalah residu pestisida. Sedangkan pada produk ternak dan perikanan kontaminasi residu pestisida, antibiotik dan logam berat. Disamping itu paparan dan kontaminasi dari udara juga dapat terjadi pada makanan (Yunaenah, 2009).

Terjadinya pencemaran dapat dibagi dalam tiga cara, yaitu :

a. Pencemaran langsung (*direct contamination*) yaitu adanya bahan pencemar yang masuk ke dalam makanan secara langsung karena

ketidaktahuan atau kelalaian baik disengaja maupun tidak disengaja. Contoh potongan rambut masuk kedalam nasi.

- b. Pencemaran silang (*cross contamination*) yaitu pencemaran yang terjadi secara tidak langsung sebagai akibat ketidaktahuan dalam pengelolaan makanan. Contoh makanan mentah bersentuhan dengan makanan masak.
- c. Pencemaran ulang (*recontamination*) yaitu pencemaran yang terjadi terhadap makanan yang telah dimasak sempurna. Contoh nasi yang tercemar dengan debu atau lalat karena tidak dilindungi dengan tutup (Kurniadi, 2013).

Tes sangkaan adalah pengujian terhadap bebas tidaknya dari jasad renik yang menimbulkan penyakit atau kemungkinan adanya bakteri koliform yang meliputi suatu spesies yaitu *Escherichia coli*. *Escherichia coli* yaitu kuman yang ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal dan dapat ditemukan dalam jumlah besar di dalam feses normal. *Escherichia coli* digunakan sebagai indikator pencemaran air atau petunjuk baik tidaknya air tersebut untuk dikonsumsi, karena *Escherichia coli* mudah dikenali dan tahan hidup dalam air untuk waktu yang lama. Pada umumnya jenis bakteri ini tidak membahayakan namun beberapa jenis diantaranya bersifat patogen dan menyebabkan diare. Saat ini telah terbukti bahwa galur-galur tertentu mampu menyebabkan gastroenteritis taraf menengah hingga taraf berat pada manusia maupun hewan (Andini, 2010).

C. Bakteri Koliform

Bakteri koliform adalah istilah yang sering digunakan untuk bakteri batang gram negatif enterik atau *Enterobacteriaceae*. Kelompok bakteri ini habitat alaminya di saluran cerna manusia dan hewan. Famili *Enterobacteriaceae* memiliki banyak genus diantaranya *Escherichia*, *shigela*, *salmonela*, *enterobakter*, *klebsiela*, *serratia*, *proteus*, dan lain-lain (Brooks *et al.*, 2008).

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah anggota keluarga *Enterobacteriaceae*, bakteri gram negatif, fakultatif anaerob, yang berbentuk basil, tidak membentuk spora maupun kapsula, berdiameter $\pm 1,1 - 1,5 \times 2,0 - 6,0 \mu\text{m}$. Kecepatan berkembang biak bakteri ini berada pada interval 20 menit jika media, derajat keasaman, dan suhu sesuai. Suhu yang optimal untuk bakteri ini adalah 37°C . Oleh karena itu, bakteri tersebut dapat hidup dalam tubuh manusia dan vertebrata lainnya (Brooks *et al.*, 2008).



Gambar 1. *Escherichia coli* (Damanik, 2010).

Kingdom : Bacteria
Filum : Proteobacteria
Kelas : Gamma proteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli* (Anggraeni, 2012)

Escherichia coli diklasifikasikan berdasarkan karakteristik sifat virulensinya, dan masing-masing kelompok menyebabkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Strain *Escherichia coli* antara lain EPEC (*Enteropathogenic Escherichia coli*), EIEC (*Enteroinvasive Escherichia coli*), EAEC, (*Enteroadhesive Escherichia coli*), ETEC (*Enterotoxigenic Escherichia coli*), dan EHEC (*Enterohemorrhagic Escherichia coli*) (Brooks *et al.*, 2008).

- a. EPEC / *Escherichia coli* *Enteropatogenic*, merupakan penyebab diare yang penting pada bayi, terutama di negara berkembang. EPEC menempel pada sel mukosa usus halus. Lesi yang khas dapat dilihat pada biopsi lesi usus halus di mikrograf elektron. Akibat infeksi EPEC adalah diare encer, yang biasanya sembuh dengan sendirinya tetapi dapat menjadi kronik. Pemeriksaan untuk mengidentifikasi EPEC dilakukan di laboratorium rujukan. Lamanya diare EPEC dapat diperpendek dengan terapi antibiotik (Siegrist, 2013).
- b. EHEC / *Escherichia coli* *Enterohemorrhagic*, menghasilkan verotoksin, paling sedikit ada dua bentuk antigenik toksin. EHEC menimbulkan kolitis hemoragik, diare yang berat, dan dengan sindroma hemolitik uremik, suatu penyakit yang mengakibatkan gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopati, dan trombositopenia. Verotoksin ini memiliki banyak sifat yang serupa dengan toksin *Shiga* yang dihasilkan oleh *Shigella dysenteriae* tipe-1, namun dua toksin tersebut berbeda secara antigenik dan genetik (Sousa, 2008).
- c. ETEC / *Escherichia coli* *Enterotoxigenic*, adalah penyebab umum “diare wisatawan” (*Traveller’s diarrhea*) dan penyebab diare yang sangat penting bagi bayi di negara berkembang. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotoksin yang tidak tahan panas (LT) (BM 80.000) yang berada dibawah kendali genetik plasmid. Subunit B menempel pada gangliosida GM1

di *brush border* sel epitel usus halus dan memfasilitasi masuknya subunit A (BM 26.000) ke dalam sel, yang kemudian mengaktivasi *adenilat siklase*. Hal ini meningkatkan konsentrasi lokal *cyclic adenosine mono phosphate* (cAMP) secara bermakna yang mengakibatkan hipersekresi air (H₂O) dan *chloride* (Cl⁻) yang banyak dan lama serta menghambat reabsorpsi natrium (Na⁺). Lumen usus teregang oleh air, terjadi hipermotilitas dan diare yang berlangsung selama beberapa hari. LT bersifat antigenik dan bereaksi silang dengan enterotoksin *Vibrio cholera*. LT merangsang produksi antibodi penetralisir di dalam serum pada orang yang sebelumnya terinfeksi dengan enterotoksin *Escherichia coli*. Beberapa strain ETEC menghasilkan enterotoksin yang tahan panas atau sitotoksin (ST) yang berada dibawah kendali kelompok plasmid heterogen. ST mengaktifkan *guanil siklase* dalam sel enterik dan merangsang sekresi cairan. Banyak strain ST juga menyebabkan diare yang lebih berat. (Francis, 2002).

- d. EAEC / *Escherichia coli Enteroaggregative*, menyebabkan diare akut dan kronik (durasi >14 hari) pada masyarakat di negara berkembang. Organisme ini juga menyebabkan penyakit yang ditularkan melalui makanan di negara industri. Organisme EAEC ini menghasilkan toksin mirip sitotoksin dan hemolisin (Brooks *et al*, 2008).

e. EIEC / *Escherichia coli Enteroinvasive*, menimbulkan penyakit mirip shigellosis. Penyakit ini terjadi paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan pada pengunjung negara-negara tersebut. Seperti shigella, strain EIEC tidak memfermentasikan laktosa atau memfermentasikan laktosa dengan lambat dan *non-motile*. EIEC menimbulkan penyakit dengan menginvasi sel epitel mukosa usus (Olsson, 2002).

2. *Salmonella sp.*

Salmonella sp. merupakan bakteri batang gram negatif, motil yang secara khas dapat memfermentasi laktosa dan manosa tanpa memproduksi gas tetapi tidak memfermentasikan maltosa dan sukrosa. Sebagian besar *Salmonella* menghasilkan H₂S. *Salmonella sp* dapat tumbuh pada media agar Mc'Conkey dan LAD. Organisme ini umum bersifat patogen untuk manusia dan hewan bila termakan (Brooks *et al.*, 2008).

3. *Shigella sp.*

Habitat asli *Shigella sp.* terbatas pada saluran cerna manusia dan primata. Organisme ini apabila jumlahnya lebih dari normal, dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan penyakit disentri basiler. *Shigella sp.* adalah bakteri gram negatif batang berbentuk *cocobasil* ditemukan pada biakan. Bakteri ini bersifat fakultatif anaerob tetapi tumbuh paling baik secara aerob. Koloni berbentuk konveks, dan bulat. Semua *Shigella sp.* dapat memfermentasikan

glukosa. Kecuali *Shigella sonnei* yang tidak dapat memfermentasikan laktosa. *Shigella* membentuk asam dari karbohidrat tetapi jarang menghasilkan gas. Organisme ini juga dapat dibagi menjadi organisme yang dapat memfermentasikan manitol dan tidak dapat memfermentasikan manitol. (Brooks *et al.*, 2008).

4. *Klebsiella sp.*

Spesies yang paling patogen dari genus *Klebsiella sp.* adalah spesies *Klebsiella pneumoniae*. Spesies ini memproduksi β -laktamase. Morfologi mikroskopik dari *Klebsiella pneumoniae* adalah bakteri batang gram negatif, ukurannya antara 0.6-6 μ m x 0.3-0.5 μ m. memiliki kapsul polisakarida dan *non motile* (Craun, 2006).

Pada media agar EMB dan *Mc'Conkey* koloni *Klebsiella sp* sangat berlendir (mukoid), ukuran koloni sedang-besar. *Klebsiella sp.* dapat menyebabkan penyakit *primary community acquired pneumonia*, pneumonia nosokomial, abses paru, emfisema, infeksi saluran kemih, enteritis pada anak, bakteremia, septikemia, *rhinoscleroma*, *ozaena* atau *chronic atrofi rhinitis*, nekrosis dan pembentukan abses dan meningitis (Craun, 2006).

5. *Proteus sp.*

Proteus sp. memiliki morfologi seperti batang (basil) gram negatif pendek, susunan berkelompok sampai satuan. Ukuran 1-3 μ m x 0.4-

0.6µm. Jenis flagel peritrik, dan tidak memiliki kapsul. Pada media agar pembiakan *Mc'Conkey*, koloni tidak berwarna. *Proteus sp.* dapat menyebabkan penyakit gastroenteritis, pleuritis, peritonitis, pyelonefritis, cystitis, septikemia, abses, serta infeksi mata dan telinga (Guilot, 2010).

6. *Enterobacter sp.*

Enterobacter aerogenes termasuk dalam kelas *enterobacteriaceae* yang merupakan bakteri fakultatif anaerob. Bakteri ini memiliki bentuk batang dengan lebar 0.6 - 1.0 µm dan panjang 1.2 - 3.0 µm, gram negatif, motil, dan optimal tumbuh pada suhu 37°C. Organisme ini mempunyai kapsul yang kecil, dapat ditemukan hidup bebas di air atau berada di saluran cerna dan dapat menyebabkan infeksi saluran kemih dan sepsis (Brooks *et al.*, 2008).

D. *Most Probable Number (MPN)*

Metode MPN terdiri dari tiga tahap, yaitu uji pendugaan (*presumptive test*), uji konfirmasi (*confirmed test*) dan uji kelengkapan (*completed test*). Dalam uji tahap pertama, keberadaan *coliform* masih dalam tingkat probabilitas rendah masih dalam dugaan. Uji ini mendeteksi sifat fermentatif *coliform* dalam sampel. Karena beberapa jenis bakteri selain *coliform* juga memiliki sifat fermentatif, diperlukan uji

konfirmasi untuk menguji kembali kebenaran adanya *coliform* dengan bantuan media selektif diferensial. Uji kelengkapan kembali meyakinkan hasil tes uji konfirmasi dengan mendeteksi sifat fermentatif dan pengamatan mikroskop terhadap ciri-ciri *coliform*: berbentuk batang, gram negatif, tidak-berspora. Output metode MPN adalah nilai MPN (Krisna, 2005).

Nilai MPN adalah perkiraan jumlah unit tumbuh (*growth unit*) atau unit pembentuk koloni (*colony forming unit/cfu*) dalam sampel. Namun, pada umumnya, nilai MPN juga diartikan sebagai perkiraan jumlah individu bakteri. Satuan yang digunakan, umumnya per 100 ml atau per gram. Jadi misalnya terdapat nilai MPN 10/g dalam sebuah sampel air, artinya dalam sampel air tersebut diperkirakan setidaknya mengandung 10 *coliform* pada setiap gramnya. Makin kecil nilai MPN, maka air tersebut makin tinggi kualitasnya dan makin layak minum. Metode MPN memiliki limit kepercayaan 95 persen sehingga pada setiap nilai MPN, terdapat jangkauan nilai MPN terendah dan nilai MPN tertinggi (Kurniawan. 2013).

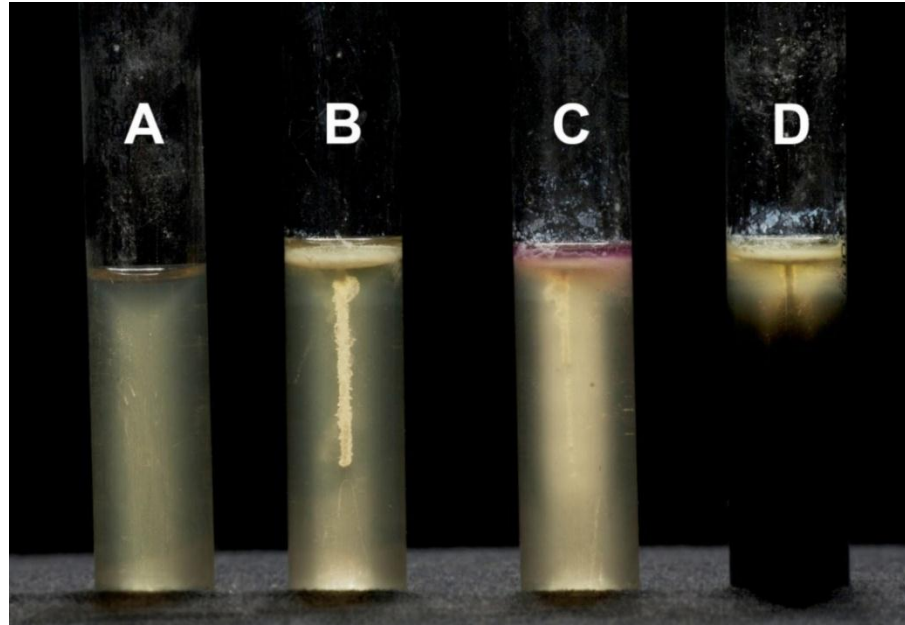
E. Identifikasi Bakteri Koliform Dengan Kultur Dan Biokimia

1. *Sulfur Indole Motility (SIM) Agar*

Media agar semisolid yang digunakan untuk mendeteksi produksi hidrogen sulfida (H_2S), pembentukan reaksi indol dan adanya

motilitas bakteri. Media SIM digunakan untuk membedakan anggota famili *Enterobacteriaceae*. Batas tidak tegas yang menyebar (bergerak) ke arah lateral dari garis tusukan ose menunjukkan tes positif adanya motilitas. Tabung harus dibandingkan dengan tabung tanpa inokulasi untuk membedakan antara kekaburan samar dan motilitas. Sebuah perubahan warna merah setelah penambahan reagen Kovács menunjukkan produksi indole, yang menandakan uji indol positif. Sebuah endapan hitam menunjukkan produksi H₂S (Wilkins, 2011).

Interpretasi media SIM Agar antara lain, bakteri *Escherichia coli* menunjukkan adanya reaksi indol, terlihat adanya motilitas serta tidak memproduksi H₂S. Bakteri *Klebsiella sp.* tidak menunjukkan adanya kekeruhan ditempat tusukan ose (koloni *non motile*), uji indol negatif dan tidak memproduksi gas H₂S. Bakteri *Proteus sp.* menunjukkan adanya motilitas, uji indol negatif serta positif terdeteksi H₂S. Untuk bakteri *Salmonella sp.* menunjukkan adanya produksi H₂S, motilitas positif serta uji indol negatif. Bakteri *Shigella sp.*, *Enterobacter sp.*, dan *Streptococcus sp.* menunjukkan uji H₂S, indol serta motilitas negatif (Sturm, 2013).



Gambar 2. Media SIM (*Sulfur Indole Motility*).

Keterangan :

A : tabung tanpa inokulasi

B : *nonmotile* dan *indole*-negatif, bakteri *Klebsiella pneumoniae*

C : motil dan *indole*-positif, bakteri *Escherichia coli*

D : motil, *indole*-negatif, dan memproduksi H_2S interpretasi bakteri *Proteus mirabilis*

2. *Brilliant Green Lactose Bile Broth*

Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) adalah sebuah media yang sangat selektif, yang mengandung media cair laktosa yang akan mendukung pertumbuhan organisme gram negatif seperti *coliform* dan *Pseudomonas sp.* Laktosa adalah sumber karbon yang digunakan oleh semua *coliform*. Garam empedu yang terkandung dalam media agar menyeleksi terhadap bakteri gram positif. Dengan sedikit pengecualian, *coliform* adalah satu-satunya organisme yang akan tumbuh dalam media ini dan juga

memproduksi gas dari fermentasi laktosa pada 35-37°C. Digunakan dalam tes konfirmasi untuk jumlah *coliform* (Lehman, 2013).

3. *Eosin Methylene Blue Agar*

Media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) adalah medium selektif dan diferensial digunakan untuk mengisolasi *coliform fecal*. *Eosin Y* dan *metilen blue* adalah pewarna indikator pH yang bergabung untuk membentuk endapan ungu gelap pada pH rendah (asam), mereka juga berfungsi untuk menghambat pertumbuhan organisme yang paling gram positif. Sukrosa dan laktosa berfungsi sebagai sumber karbohidrat dapat difermentasi yang mendorong pertumbuhan *coliform*. Fermentor yang kuat dari laktosa atau sukrosa akan menghasilkan jumlah asam yang cukup untuk membentuk kompleks warna ungu tua. Pertumbuhan organisme ini akan muncul berwarna ungu tua sampai hitam. *Escherichia coli*, suatu fermentor yang kuat, sering menghasilkan warna koloni hijau metalik. Fermentor lambat atau lemah akan menghasilkan koloni merah muda mukoid atau berlendir. Biasanya koloni berwarna atau tidak berwarna menunjukkan bahwa organisme fermentor laktosa atau sukrosa tersebut bukan merupakan *coliform fecal* (Cheeptham, 2013).

4. Uji Biokimia

Uji biokimia meliputi uji gula-gula seperti glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa, manitol, kemudian uji agar SIM (Sulfur, Indol, Motility). Interpretasi positif *Escherichia coli* pada uji Glukosa (+), uji Sukrosa (+), Maltosa (+), Manitol (+), Laktosa (+/-). Pada Uji agar SIM, interpretasi Sulfur (-), Indol (+), Motility (+/-) serta pada uji SC (-) (Meutia, 2008).