

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA MINUMAN SUSU
KEDELAI BERMEREK DAN TIDAK BERMEREK
DI KOTA BANDAR LAMPUNG**

Skripsi

**Oleh:
AGTARIA DWI MOLITA**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2017**

ABSTRACT

THE IDENTIFICATION BACTERIUM *ESCHERICHIA COLI* TO SOYBEAN MILK BRANDED BEVERAGES AND NOT BRANDED IN BANDAR LAMPUNG

By

AGTARIA DWI MOLITA

Background: *Escherichia coli* is a bacterium that is part of the normal microflora in the intestines of humans and animals. Transmission can occur through contaminated water infected with human excrement but it can occur through contact of infected workers during food processing.

Objective: To ascertain whether or not the bacteria *Escherichia coli* contamination in milk.

Methods: Determination of the number of samples based on simple random sampling method. This study uses MPN (Most Probable Number) for bacterial growth media and biochemical tests to identify the bacteria.

Results: After doing research for branded soy milk from 11 samples were not found *Escherichia coli* and for unbranded soy milk of 12 samples that *Escherichia coli* bacteria was not found but the four samples obtained other bacteria that two samples of suspect bacteria *Klebsiella sp.* and two other samples suspected of *Pseudomonas sp.*

Conclusion: There was no contamination was found bacterium *Escherichia coli* to drink soy milk both branded and non-branded, however found the bacteria *Klebsiella sp.* and *Pseudomonas sp.* in non-branded soy milk.

Keywords: *Escherichia coli*, Most Probable Number, soy milk.

ABSTRAK

IDENTIFIKASI BAKTERI *ESCHERICHIA COLI* PADA MINUMAN SUSU KEDELAI BERMEREK DAN TIDAK BERMEREK DI KOTA BANDAR LAMPUNG

Oleh

AGTARIA DWI MOLITA

Latar Belakang: *Escherichia coli* adalah bakteri yang merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam usus manusia dan hewan. Penularan dapat terjadi melalui air yang terkontaminasi kotoran manusia yang terinfeksi selain itu dapat terjadi melalui kontak dari pekerja yang terinfeksi selama makanan diproses.

Tujuan: Untuk mengetahui ada atau tidak kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada susu.

Metode: Penentuan jumlah sampel berdasarkan metode *simple random sampling*. Jenis penelitian ini menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) untuk media pertumbuhan bakteri dan uji biokimia untuk identifikasi bakteri.

Hasil: Setelah dilakukan penelitian untuk susu kedelai bermerek dari 11 sampel tidak didapatkan *Escherichia coli* dan untuk susu kedelai tidak bermerek dari 12 sampel tidak didapatkan bakteri *Escherichia coli* tetapi dari 4 sampel tersebut didapatkan bakteri lain yaitu dua sampel suspek bakteri *Klebsiella sp.* dan dua sampel lainnya suspek bakteri *Pseudomonas sp.*

Simpulan: Tidak ditemukan kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada minuman susu kedelai bermerek maupun tidak bermerek, tetapi ditemukan bakteri *Klebsiella sp.* dan *Pseudomonas sp.* pada susu kedelai tidak bermerek.

Kata kunci: *Escherichia coli*, *Most Probable Number*, susu kedelai.

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA MINUMAN SUSU
KEDELAI BERMEREK DAN TIDAK BERMEREK
DI KOTA BANDAR LAMPUNG**

**Oleh:
AGTARIA DWI MOLITA**

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Fakultas Kedokteran
Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
2017**

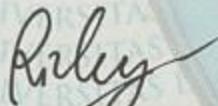
Judul Skripsi : **IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA MINUMAN SUSU KEDELAI BERMEREK DAN TIDAK BERMEREK DI KOTA BANDAR LAMPUNG**

Nama Mahasiswa : **Agtaria Dwi Molita**

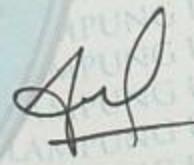
No. Pokok Mahasiswa : **1318011003**

Program Studi : **Pendidikan Dokter**

Fakultas : **Kedokteran**



dr. M. Ricky Ramadhian, S.Ked., M.Sc
NIP 19830615 200812 1 001



dr. Rika Lisiswanti, S.Ked., M.Med.Ed
NIP 19801005 200812 2 001

MENGETAHUI

Dekan Fakultas Kedokteran

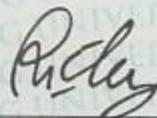


Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA
NIP 19701208 200112 1 001

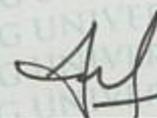
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : dr. M. Ricky Ramadhian, S.Ked., M.Sc



Sekretaris : dr. Rika Lisiswanti, S.Ked., M.Med.Ed



Penguji

Bukan Pembimbing : dr. Tri Umiana Soleha, S.Ked., M.Kes



2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Muhartono, S.Ked., M.Kes., Sp.PA

NIP. 19701208 200112 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 13 Februari 2017

LEMBAR PERNYATAAN

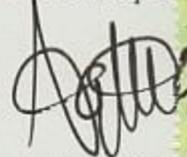
Dengan ini saya menyatakan dengan sebenarnya, bahwa:

1. Skripsi dengan judul **“IDENTIFIKASI BAKTERI Escherichia coli PADA MINUMAN SUSU KEDELAI BERMEREK DAN TIDAK BERMEREK DI KOTA BANDAR LAMPUNG”** adalah hasil karya sendiri dan tidak melakukan penjiplakan atau pengutipan atas karya penulis lain dengan cara tidak sesuai tata etika ilmiah yang berlaku dalam masyarakat akademik atau yang disebut plagiarisme.
2. Hak intelektualitas atas karya ilmiah ini diserahkan sepenuhnya kepada Universitas Lampung.

Atas pernyataan ini apabila dikemudian hari ternyata ditemukan adanya ketidakbenaran, saya bersedia menanggung akibat dan sanksi yang diberikan kepada saya.

Bandar Lampung, 13 Februari 2017

Pembuat per



Agtaria Dwi Molita

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 22 Agustus 1995, sebagai anak kedua dari 3 bersaudara dari Bapak Ir. Hi. Tabrani Mahfi, M.P dan Ibu Dra. Hj. Monalisa Raya, S. Sos.

Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) diselesaikan di TK Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2001, Sekolah Dasar (SD) diselesaikan di SD Al-Kautsar Bandar Lampung pada tahun 2007, Sekolah Menengah Pertama (SMP) diselesaikan di SMPN 1 Bandar Lampung pada tahun 2010, dan Sekolah Menengah Atas (SMA) diselesaikan di SMAN 3 Bandar Lampung pada tahun 2013.

Tahun 2013, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Undangan.

*Sebuah persembahan sederhana untuk Ayah,
Bunda, Kakak dan Adik Dan Keluarga Besar
Tercinta yang telah senantiasa memberikan
dukungan dan doa*

*“Ya ALLAH perhitungkanlah semua
lelah dan keringat yang menetes.*

*Berkahkanlah setiap langkah yang
saya jalani'*

*Sebuah persembahan sederhana untuk
Ayah, Bunda, Kakak dan Adik Dan
Keluarga Besar Tercinta yang telah
senantiasa memberikan dukungan dan doa*

*“Ya ALLAH
perhitungkanlah
semua lelah dan
keringat yang menetes.
Berkahkanlah setiap
langkah yang saya
jalani”*

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, atas limpahan Rahmat dan Karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada minuman susu kedelai bermerek dan tidak bermerek di Kota Bandar Lampung”. Ini untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan studi untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Penghargaan dan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada keluarga yang telah mencurahkan segenap cinta dan kasih sayang serta perhatian moril maupun materil. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat, Kesehatan, Karunia dan keberkahan di dunia dan di akhirat atas jasa yang telah diberikan kepada penulis.

Akhir kata penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Karena itu, penulis memohon saran dan kritik yang sifatnya membangun demi kesempurnaannya dan semoga bermanfaat bagi kita semua.

Amiin

Bandar Lampung, Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
I. PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.3.1. Tujuan Khusus	5
1.3.2. Tujuan Umum	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Bagi Peneliti.....	5
1.4.2 Bagi Masyarakat	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Susu Kedelai	6
2.1.1. Pengertian Susu Kedelai	6
2.1.2. Pembuatan Susu Kedelai	6
2.1.3. Komposisi dan Manfaat Susu Kedelai	8
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	11
2.3 Penularan Penyakit Oleh Mikroorganisme Dalam Susu	14
2.4 Syarat Kualitas Susu Kedelai	16
2.5 Pengawetan Susu	17

2.6	Pengujian Mutu Susu Secara Biologik	19
2.6.1.	Pengujian Secara Biologik	20
2.6.2.	Pengujian Secara Mikroskopik	22
2.7	Identifikasi Bakteri	22
2.8	Metode Perhitungan Jumlah Bakteri	23
2.9	Kerangka Teori	25
2.10	Kerangka Konsep	25
2.11	Hipotesis	25

III. METODE PENELITIAN

3.1	Desain Penelitian	26
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	26
3.2.1.	Tempat Penelitian	26
3.2.2.	Waktu Penelitian.....	27
3.3	Subyek Penelitian	27
3.4	Objek Penelitian	30
3.5	Definisi Operasional	30
3.6	Identifikasi Variabel	32
3.6.1.	Variabel Independen	32
3.6.2.	Variabel Dependen	32
3.7	3.7. Metode Pengumpulan Data.....	32
3.8	3.8. Bahan Penelitian	33
3.8.1.	Mikroba Uji Penelitian	33
3.8.2.	Bahan Uji Penelitian	33
3.8.3.	Media Kultur	33
3.9	Pengolahan Data dan Analisis Data.....	33
3.9.1.	Pengolahan Data	33
3.9.2.	Analisa Data	34
3.10	Cara Kerja Penelitian	34
3.10.1.	Tahap Persiapan	34
3.10.1.1.	Alat dan Bahan	34
3.10.1.2.	Sterilisasi Alat dan Bahan	35

3.10.1.3. Pengambilan Sampel	36
3.10.2. Tahap Pengujian	36
3.10.2.1. Menghitung <i>Most Probable Number</i> (MPN).....	36
3.10.2.2. Uji Biokimia Bakteri	38
3.10.2.3. Pewarnaan Gram	40
3.10.2.4. Pemeriksaan Mikroskop	41
3.11 Etika Penelitian	41
3.12 Alur Kerja	42

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian	43
4.1.1 Susu Kedelai Tidak Bermerek	43
4.1.2 Susu Kedelai Bermerek	46
4.2 Pembahasan	47

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan	58
5.2 Saran	58

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 1. Komposisi susu kedelai, susu sapi dan ASI Per 100 Gram.....	8
Tabel 2. Beberapa gejala penyakit dan media pencemaran mikroba pada bahan pangan asal ternak	15
Tabel 3. Batas cemaran mikroba dalam pangan	17
Tabel 4. MPN seri tiga tabung	29
Tabel 5. Definisi operasional	31
Tabel 6. Hasil Uji Penduga Susu Kedelai Tidak Bermerek	44
Tabel 7. Hasil Uji Penegasan Susu Kedelai Tidak Bermerek	44
Tabel 8. Hasil Uji Biokimia	45
Tabel 9. Hasil Uji Fermentasi	45
Tabel 10. Interpretasi Bakteri Berdasarkan Hasil Uji MPN, TSIA SIM, dan Fermentasi Karbohidrat	46
Tabel 11. Hasil Uji Penduga Susu Kedelai Bermerek	47

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 1. Pengolahan susu kedelai berkualitas	7
Gambar 2. Kerangka Teori Penelitian	25
Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian	25

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Susu merupakan bahan makanan yang bergizi tinggi karena mengandung zat-zat makanan yang lengkap dan seimbang seperti protein, lemak, karbohidrat, mineral dan vitamin yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Kandungan nilai gizi yang tinggi menyebabkan susu menjadi media yang sangat disukai oleh mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembang sehingga bila tidak ditangani secara benar kualitas dari susu olahan menjadi rendah dan tidak layak untuk dikonsumsi (Abduh *et al.*, 2013).

Susu kedelai adalah minuman tradisional yang semakin populer di Amerika Serikat dan dunia (Jimoh & Kolapo, 2008). Susu kedelai yang merupakan ekstrak cair dari seluruh kacang kedelai kaya akan larut dalam air, protein, karbohidrat dan minyak. Susu kedelai dibuat dengan merendam kedelai dalam air sebelum digiling dan disaring. Susu kedelai merupakan emulsi putih atau krem yang menyerupai susu sapi (susu konvensional) di kedua penampilan dan konsistensi. Susu kedelai mengalami peningkatan popularitas sebagai minuman di seluruh dunia direkomendasikan untuk manfaat

kesehatan misalnya rendah kolesterol dan laktosa, kemampuannya untuk mengurangi kehilangan massa tulang dan gejala menopause, serta pencegahan penyakit jantung dan kanker tertentu (Iwe, 2003; Kolapo dan Oladimeji, 2008; Adebayo- Tayo *et al*, 2008).

Air merupakan salah satu bahan baku yang akan diolah dalam pembuatan susu kedelai. Air minum yang sehat merupakan salah satu kebutuhan dasar bagi kualitas dan kelangsungan hidup manusia. Oleh karenanya air minum mutlak harus tersedia dalam kuantitas (jumlah) dan kualitas yang memadai. Pada hakekatnya, alam telah menyediakan air minum yang dibutuhkan, namun demikian desakan pertumbuhan penduduk yang tidak merata serta aktivitas penduduk yang kian kompleks telah menimbulkan berbagai dampak perubahan tatanan dan keseimbangan lingkungan. Ini menyebabkan air yang ada terganggu jumlah dan kualitasnya, sehingga tidak lagi layak untuk dikonsumsi secara langsung. Air yang tidak dimasak dengan benar akan memungkinkan bakteri yang ada di dalam air tersebut untuk tetap hidup dan dapat menjadi sumber penularan penyakit ke setiap individu (Putra, 2010).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroorganisme indikator yang dipakai di dalam analisis air untuk menguji adanya pencemaran oleh tinja, tetapi untuk media penyebarannya tidak selalu melalui air, melainkan melalui kegiatan tangan ke mulut atau dengan pemindahan pasif melalui makanan atau minuman (Melliawati, 2009). *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC) dalam grup bakteri patogen yang

menyebabkan penyakit dengan berpegang pada permukaan luminal epitel usus host. EPEC dan EHEC adalah penyebab utama diare infeksi yang mengakibatkan morbiditas dan mortalitas yang signifikan di seluruh dunia. Selain itu ada jenis lain menurut sifat virulensinya, yaitu *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *Enteroinvasive E. coli* (EIEC) dan *Enteroaggregative E. coli* (EAEC) (Law *et al.*, 2013).

Pada penelitian sebelumnya mengenai higienitas sanitasi pengolahan susu kedelai yang berada di Kota Medan, didapatkan hasil bahwa pada usaha kecil pengolahan susu kedelai belum memenuhi syarat kesehatan serta empat dari sepuluh sampel didapatkan susu kedelai yang mengandung bakteri *Escherichia coli* (Sirait, 2009). Sedangkan, dari hasil pemeriksaan minuman susu kedelai bermerek yang ada di Kota Surakarta, 100% sampel tidak mengandung bakteri *E. coli*, begitu juga dengan minuman susu kedelai tanpa merek yang 100% sampel tidak mengandung bakteri *E. coli*. Hal ini berarti minuman susu kedelai bermerek dan tanpa merek yang diperiksa terhadap keberadaan bakteri *E. coli* telah memenuhi syarat sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI) Nomor 01-3839-1995, maupun Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor HK.00.06.1.52.4011. Namun, Namun, berdasarkan pemeriksaan total bakteri coliform pada sepuluh sampel minuman susu kedelai tersebut, terdapat lima sampel yang minuman susu kedelai yang melebihi ambang batas. Jika merujuk pada standar yang telah ditetapkan, maka lima sampel minuman susu

kedelai yang mengandung bakteri coliform yang melebihi batas tersebut tidak layak untuk dikonsumsi (Murtiningtyas, 2016).

Di Bandar Lampung kejadian diare pada balita tahun 2014 dari bulan Januari hingga Juni mencapai 2810 kasus, sedangkan pada tahun 2015 dari bulan Januari hingga Juni angka kejadian diare mencapai 2998. Hal ini menunjukkan bahwa angka kejadian diare mengalami peningkatan. Puskesmas Kedaton merupakan Puskesmas yang memiliki angka kejadian diare pada balita tertinggi di Bandar Lampung, dengan angka kejadian pada balita tahun 2014 dari bulan Januari hingga bulan Juni adalah 242 kasus. Sedangkan kasus diare untuk balita di Puskesmas Kedaton dari bulan Januari hingga bulan Juni tahun 2015 sebanyak 399 kasus (Dinkes Kota Bandar Lampung, 2015). Dari latar belakang masalah di atas, maka perlu dilakukan penelitian bakteriologis mengenai jumlah dan jenis koloni mikrobakteri khususnya bakteri *Escherichia coli* yang ada pada minuman susu kedelai bermerek dan tanpa merek di Kota Bandar Lampung.

1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang masalah di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut: Apakah terdapat bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai bermerek dan tidak bermerek?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengidentifikasi ada atau tidak bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai bermerek dan tidak bermerek

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Memberikan pengalaman dalam melaksanakan penelitian dari sampel susu kedelai dari berbagai jajanan pasar dan menambah wawasan serta pengetahuan mengenai higienitas dan sanitasi yang terdapat di susu kedelai di Kota Bandar Lampung.

1.4.2 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat umum khususnya semua produsen susu kedelai di Kota Bandar Lampung tentang pentingnya sanitasi dari produk susu kedelai agar meningkatkan kualitas mutu susu kedelai tersebut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu Kedelai

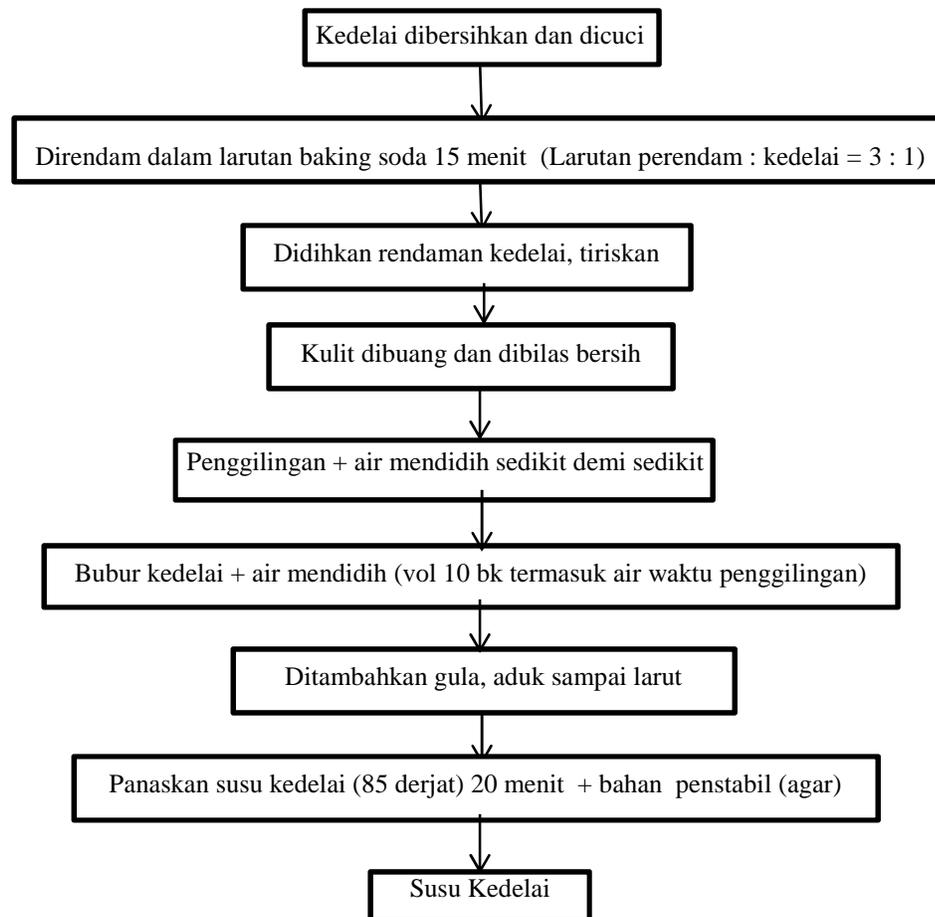
2.1.1 Pengertian Susu Kedelai

Kedelai merupakan salah satu komoditas pertanian yang mempunyai nilai ekonomis yang cukup tinggi, dikarenakan kedelai merupakan bahan pangan yang mempunyai kandungan protein lebih besar dibandingkan dengan beras, jagung, tepung singkong dan yang lainnya serta mempunyai sifat mudah rusak dan membusuk, sehingga mutu atau kualitasnya mudah menurun. Kondisi ini yang mendorong produsen kedelai untuk menciptakan produk yang menggunakan bahan baku kedelai, salah satunya adalah susu kedelai (Nuning, 2011).

2.1.2 Pembuatan Susu Kedelai

Pada dasarnya semua biji-bijian dapat diproses menjadi susu. Dengan diolah menjadi susu akan menaikkan nilai cerna dari biji-bijian tersebut. Susu kedelai memiliki bentuk menyerupai susu sapi, cara menyiapkannya

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



Gambar 1. Pengolahan susu kedelai berkualitas.

2.1.3 Komposisi dan Manfaat Susu Kedelai

Susu kedelai yang mengandung protein nabati tidak kalah gizinya dengan susu yang berasal dari hewan (susu sapi). Perbandingan komposisi gizi di dalam susu kedelai, susu sapi, dan ASI dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Susu Kedelai, Susu Sapi dan ASI Per 100 Gram

Komposisi	Susu kedelai	Susu sapi	ASI
Air (%)	88,60	88,60	88,60
Kalori (kkal)	52,99	58,00	62
Protein (%)	4,40	2,90	1,40
Karbohidrat (%)	3,80	4,50	7,20
Lemak (%)	2,50	0,30	3,10
Vit. B1 (%)	0,04	0,04	0,02
Vit. B2 (%)	0,02	0,15	0,03
Vit. A (%)	0,02	0,20	0,20
Kalsium (mg)	15	100	35
Fosfor (mg)	49	90	25
Natrium (mg)	2	16	15
Besi (mg)	1,20	0,10	0,20
Asam lemak jenuh (%)	40-48	60-70	55,30
Asam lemak tak jenuh (%)	52-60	30-40	44,70
Kolesterol (mg)	0	9,24-9,9	9,3-18,6
Abu (g)	0,5	0,7	0,2

Sumber: Koswara (2006)

Susu kedelai mempunyai gizi yang hampir setara dengan susu sapi, umumnya digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi penderita *lactose intolerance* dan penderita alergi terhadap protein susu sapi (Koswara, 2006). Susu kedelai juga dikenal sebagai minuman kesehatan karena tidak mengandung kolesterol tetapi mengandung fitokimia, yaitu suatu senyawa dalam bahan pangan yang berkhasiat menyehatkan tubuh. Susu kedelai juga mengandung lesitin yang sangat tinggi. Lesitin dari kacang kedelai

mempunyai sifat lebih unggul sebagai peremaja sel tubuh dan meningkatkan daya tahan tubuh, jika dibandingkan lesitin dari bahan-bahan lain (Cahyadi, 2005).

Susu kedelai tidak mengandung vitamin B12 dan kandungan mineralnya terutama kalsium lebih sedikit daripada susu sapi. Oleh karena itu, dianjurkan penambahan atau fortifikasi mineral dan vitamin pada susu kedelai yang diproduksi oleh industri besar. Secara umum, susu kedelai mengandung vitamin B2, B3 niasin, piridoksin dan golongan vitamin B lain yang tinggi (kecuali vitamin B12). Vitamin lain yang terkandung dalam jumlah tinggi adalah vitamin E dan K (Koswara, 2005).

Karbohidrat dalam ekstrak susu kedelai berasal dari golongan oligosakarida dan polisakarida, merupakan prebiotik yang terdapat dalam kedelai dan digunakan lebih lanjut oleh mikroorganisme probiotik yang hidup dalam saluran cerna sebagai sumber energi. Ekstrak kedelai merupakan sumber prebiotik alami mengandung karbohidrat jenis *galactooligosaccharides* (GOS) yang tidak dapat dicerna oleh enzim dalam tubuh manusia tetapi dapat dicerna oleh BAL dengan menggunakan enzim *alpha-galaktosidase* (Harish and Varghese, 2006).

Selain itu, susu dan susu kedelai mempunyai komposisi dan mutu proteinnya hampir sama. Susu kedelai mampu menggantikan susu sapi karena protein susu kedelai mempunyai susunan asam amino hampir mirip dengan susu sapi. Komposisi asam amino metionin dan sistein dalam protein susu kedelai lebih sedikit daripada susu sapi. Akan tetapi, karena kandungan asam amino lisin yang cukup tinggi, maka susu kedelai dapat meningkatkan nilai gizi protein dari nasi dan makanan sereal lainnya (Koswara, 2005).

Atas dasar ketersediaannya dikenal 2 kelompok asam amino, yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino esensial adalah asam amino yang sangat diperlukan oleh tubuh, tetapi tidak dapat disintesis dari bahan makanan dengan kecepatan yang memadai (sesuai dengan kebutuhan), oleh karena itu harus disediakan dalam bentuk jadi (sudah ada dalam bahan makanan yang dikonsumsi). Termasuk dalam kelompok asam amino esensial yaitu: lisin, triptopan, fenilalanin, leusin, isoleusin, treonin, metionin, valin. Jika dilihat komposisi asam amino yang terkandung dalam susu kedelai menunjukkan bahwa susu kedelai mengandung kedelapan asam amino esensial. Asam amino non esensial juga sangat diperlukan oleh tubuh sama pentingnya seperti asam amino esensial. Akan tetapi asam amino non esensial ini dapat disintesis oleh tubuh dalam jumlah yang memadai dari bahan-bahan yang ada dalam makanan.

Protein yang terkandung dalam produk fermentasi merupakan jumlah total protein susu yang digunakan sebagai bahan baku dan protein bakteri-bakteri yang terkandung dalam starter. Isoflavon merupakan senyawa flavonoid dalam kedelai merupakan gabungan dari ikatan sejumlah asam amino dengan vitamin dan beberapa zat gizi lain, merupakan senyawa fenol heterosiklik yang strukturnya mirip dengan steroid estrogen (Sofian, 2008). Isoflavon merupakan kunci dalam kedelai sehingga kedelai dianggap dapat memerangi berbagai penyakit antara lain penyakit jantung, mencegah osteoporosis, menanggulangi menopause dan sebagai zat anti kanker (Koswara, 2006)

2.2 Bakteri *Escherichia coli*

Taksonomi *Escherichia coli*

Kingdom : *Prokaryota*

Divisio : *Gracilicutes*

Class : *Scotobacteria*

Ordo : *Eubacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*

Genus : *Escherichia*

Spesies : *E. coli*

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz *et al.*, 2012). Pertumbuhan *E. coli* optimum pada suhu 37°C. *E. coli* mempunyai beberapa antigen, yaitu antigen O (polisakarida), antigen K (kapsular), antigen H (flagella). Antigen O merupakan antigen somatik berada dibagian terluar dinding sel lipopolisakarida dan terdiri dari unit berulang polisakarida. Antibodi terhadap antigen O adalah IgM. Antigen K adalah antigen polisakarida yang terletak di kapsul (Juliantina *et al.*, 2008).

Escherichia coli adalah anggota flora normal usus *E. coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *E. coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkan oleh bakteri *Escherichia coli* (Norajit *et al.*, 2007). *Escherichia coli* yang menyebabkan diare banyak ditemukan di seluruh dunia. *E. coli* diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensinya, dan setiap kelompok menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Ada lima kelompok galur *E. coli* yang patogen, yaitu :

1. *E. coli* Enteropatogenik (EPEC)

EPEC penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC sebelumnya dikaitkan dengan wabah diare pada anak-anak di negara maju. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil.

2. *E. coli* Enterotoksigenik (ETEC)

ETEC penyebab yang sering dari “ diare wisatawan ” dan penyebab diare pada bayi di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil.

3. *E. coli* Enteroinvasif (EIEC)

EIEC menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit yang paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut. Galur EIEC bersifat non-laktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat tidak dapat bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus.

4. *E. coli* Enterohemoragik (EHEK)

EHEK menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksiknya pada sel Vero, suatu ginjal dari monyet hijau Afrika.

5. *E. coli* Enteroagregatif (EAEC)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang (Adila *et al.*, 2013).

2.3 Penularan Penyakit Oleh Mikroorganisme Dalam Susu

Makanan dan minuman merupakan salah satu bagian yang penting untuk kesehatan manusia mengingat setiap saat dapat saja terjadi penyakit-penyakit yang diakibatkan oleh makanan (*food borne diseases*). Dengan demikian, penanganan makanan dan minuman harus mendapat perhatian yang cukup (Chandra dan Budiman, 2007). Susu merupakan media yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri dan dapat menjadi sarana bagi penyebaran bakteri yang membahayakan kesehatan manusia. Karena itu, susu akan mudah tercemar mikroorganisme bila penanganannya tidak memperhatikan aspek kebersihan (Balía *et al.*, 2008).

Makanan yang terkontaminasi selama pengolahan dapat menjadi media penularan penyakit. Penularan penyakit ini bersifat infeksi, yaitu suatu penyakit yang disebabkan oleh mikroba yang hidup dan berkembang biak pada tempat terjadinya peradangan. Mikroba masuk ke dalam saluran pencernaan manusia melalui makanan, yang kemudian dicerna dan diserap oleh tubuh. Dalam kondisi

yang sesuai, mikroba patogen akan berkembang biak di dalam saluran pencernaan sehingga menyebabkan gejala penyakit. *Foodborne disease* yang disebabkan oleh *Salmonella* dapat menyebabkan kematian pada manusia, media pencemarannya dapat berasal dari air pencuci yang telah terkontaminasi. Mikroorganisme lainnya yang dapat menyebabkan foodborne disease antara lain *Compylobacter*, *E. coli*, dan *Listeria* (Tabel 2). Gejala umum *foodborne disease* adalah perut mual diikuti muntah-muntah, diare, demam, kejang-kejang, dan gejala lainnya. Memperbaiki sanitasi terutama lingkungan, merupakan salah satu solusi terbaik dalam mengantisipasi pencemaran mikroba. Sanitasi yang buruk yang menyebabkan air tercemar tinja yang mengandung kuman penyakit, menyebabkan terjadinya *waterborne disease*. Angka kejadian *waterborne disease* dan *food-borne disease* di Indonesia tergolong tinggi, yaitu sekitar 300–1.000 penduduk menderita diare dan dua pertiga penduduk terinfeksi cacangan (Andriani, 2008).

Tabel 2. Beberapa gejala penyakit dan media pencemaran mikroba pada bahan pangan asal ternak.

Agen	Media/sumber pencemaran	Gejala
<i>Salmonella</i>	Air pencuci terkontaminasi	Demam, diare, kram perut
<i>Campylobacter</i>	Kontak dengan permukaan karkas unggas yang terinfeksi, atau mengonsumsi daging ayam yang masih mentah	Diare, demam, kram perut
<i>Escherichia coli</i>	Makanan/minuman yang tercemar	Diare berdarah dan kesakitan oleh feses karena kram perut tanpa disertai demam
<i>Listeria</i>	Makanan mentah, susu yang dipasteurisasi, keju lunak	Infeksi di selaput otak, infeksi meluas ke dalam saluran darah

Sumber: Andriani (2008).

2.4 Syarat Kualitas Susu Kedelai

Susu yang baik harus memenuhi syarat:

- a. Jumlah bakteri sedikit.
- b. Mempunyai nilai gizi yang tinggi.
- c. Tidak ada perubahan cita rasa khas susu.
- d. Bebas dari bakteri patogen dan substansi-substansi yang bersifat racun.
- e. Bebas dari spora-spora dan mikroorganisme penyebab penyakit.
- f. Bersih, bebas dari debu atau kotoran-kotoran yang lain.
- g. Tidak dikurangi atau ditambahkan bahan-bahan lainnya.

Pada Tabel 3. menjelaskan bahwa batas cemaran mikroba dalam pangan yaitu terutama untuk susu segar dan susu pasteurisasi dan UHT. Pada tabel tersebut dapat dilihat bahwa menurut SNI 7388 : 2009 untuk susu segar yang diproses lebih lanjut dan untuk konsumsi baik dari susu sapi, kuda, kambing dan ternak lainnya memiliki batas maksimum untuk *Escherichia coli* adalah <3/ml (Badan Standardisasi Nasional, 2009).

Tabel 3. Batas Cemaran Mikroba dalam Pangan

No. Kat pangan	Kategori Pangan	Jenis cemaran Mikroba	Batas Maksimum	
01.0	Produk-produk susu dan analognya, kecuali yang termasuk kategori 02.0			
01.1	Susu dan minuman berbasis susu			
	Susu segar (susu yang tidak dipasteurisasi) untuk diproses lebih lanjut (susu sapi, kuda, kambing, dan ternak lain)	ALT (30°C, 72 jam)	1 x 10 ⁶ koloni/ml	
		Koliform APM	2 x 10 ¹ koloni/ml	
		<i>Escherichia coli</i>	< 3/ml	
		<i>Salmonella sp.</i>	negatif / 25ml	
	Susu segar (susu yang tidak dipasteurisasi) untuk konsumsi langsung (susu sapi, kuda, kambing, kerbau)	ALT (30°C, 72 jam)	5 x 10 ⁴ koloni/ml	
		Koliform APM	2 x 10 ¹ koloni/ml	
		<i>Escherichia coli</i>	< 3/ml	
		<i>Salmonella sp.</i>	negatif / 25ml	
	Susu pasteurisasi (tawar atau berperisa)	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ² koloni/ml	
		<i>Listeria monocytogenes</i>	negatif / 25ml	
		<i>Campylobacter sp.</i>	negatif / 25ml	
		ALT (30°C, 72 jam)	5 x 10 ⁴ koloni/ml	
	Susu steril dan susu UHT (tawar atau berperisa)	APM Koliform	10/ml	
		APM <i>Escherichia coli</i>	< 3/ml	
		<i>Salmonella sp.</i>	negatif / 25ml	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ² koloni/ml	
	Susu steril dan susu UHT (tawar atau berperisa)	<i>Listeria monocytogenes</i>	negatif / 25ml	
		ALT (30°C, 72 jam) setelah inkubasi selama 15 hari	< 10 koloni/0,1 ml	
06.8		Produk-produk kedelai		
		Susu Kedelai	ALT (30°C, 72 jam)	5 x 10 ⁴ koloni/ml
	APM Koliform		20/ml	
	APM <i>Escherichia coli</i>		< 3/ml	
	<i>Salmonella sp.</i>		negatif / 25ml	
	<i>Staphylococcus aureus</i>		1 x 10 ² koloni/ml	
	<i>Bacillus cereus</i>		1 x 10 ³ koloni/ml	
	Kapang		5 x 10 ¹ koloni/ml	

Keterangan: ALT (*Alanine Transaminase*), APM (Angka Paling Mungkin), UHT (*Ultra High Temperature*)

Sumber : Badan Standardisasi Nasional. Batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. SNI 7388 : 2009.

2.5 Pengawetan Susu

Beberapa cara dilakukan para penjual susu kedelai agar produksi susu kedelai tersebut awet dan teknik terakhir yang dipakai adalah pemberian bahan kimia pengawet makanan. Cara ini meskipun masih ditolerir sebatas bahan pengawet

makanan tersebut direkomendasikan BPOM. Meskipun demikian, hal tersebut menjadikan dilema bagi penikmat susu kedelai di satu sisi konsumen dan pihak lain produsennya. Konsumen menginginkan produk susu kedelai yang dikonsumsi segar dan terhindar dari tambahan bahan kimia apapun baik itu pewarna ataupun pengawet bahan makanan, karena prinsip orang mengkonsumsi susu kedelai adalah untuk menjaga kesehatan tubuh. Disisi lain, pihak produsen susu kedelai tidak mau mengalami banyak kerugian apabila produk susu kedelai cairnya yang telah dititipkan cepat rusak dalam beberapa jam saja (Buckle, 2009).

Meskipun banyak yang tidak merekomendasikan pemberian bahan pengawet makanan atau minuman utamanya susu kedelai cair, ada baiknya juga dipelajari apa dan bagaimana bahan kimia pengawet ini sebenarnya. Berikut akan diuraikan hal-hal yang dapat dilakukan agar susu kedelai yang di produksi lebih tahan lama.

1. Menghindari kerusakan bahan pangan dengan memperhatikan pemilihan bahan baku dan proses produksinya, yaitu menggunakan bahan baku kedelai yang baik, membersihkan semua alat sebelum digunakan, mencuci tangan sebelum dan setelah bekerja, memasak susu dengan seksama dan sempurna untuk membunuh mikroorganisme di dalamnya, mengemas susu setelah dingin dan menyimpannya di tempat yang sesuai (tidak lembab, tidak terkena sinar matahari langsung, lebih baik disimpan di lemari pendingin).

2. Pasteurisasi, teknik ini pada umumnya digunakan untuk mengawetkan susu dari hewani, seperti susu sapi. Teknologi pasteurisasi yang dapat diterapkan dalam pengawetan susu kedelai adalah dengan proses *Ultra High Temperature* (UHT). Susu dipanaskan sampai 125°C selama 15 detik atau 131°C selama 0,5 detik. Pemanasan dilakukan dibawah tekanan tinggi untuk menghasilkan perputaran dan mencegah terjadinya pembakaran susu pada lempeng-lempeng alat pemanas (Buckle *et al.*, 2009).
3. Pemberian bahan kimia pengawet makanan, tujuan penambahan bahan pengawet pada makanan adalah untuk menghambat pembusukan, menjamin mutu awal pangan agar tetap terjaga selama mungkin serta untuk memelihara kesegaran dan mencegah kerusakan makanan atau bahan makanan. Beberapa jenis pengawet makanan yang dapat ditambahkan dalam produk yang mengandung protein nabati tinggi seperti susu kedelai seperti asam benzoat, asam propionat, kalium sorbat, dan natrium benzoat (Cahyadi, 2008).

2.6 Pengujian Mutu Susu Secara Biologik

Pengujian mutu susu secara biologik terdiri atas beberapa bagian, yaitu pengujian mikroskopik, pengujian biokimiawi, dan pengujian bakteriologik atau mikrobiologik. Pengujian mutu susu secara biologik sebagai akibat dari kegiatan

mikroba (bakteri, kapang dan *yeast*) dan enzim-enzim dalam susu, perubahan-perubahan sifat susu dapat terjadi baik sifat fisika ataupun kimianya. Pengujian biologik dikerjakan untuk mengetahui kemungkinan atau akibat terjadi perubahan tersebut. Dalam hal ini pengujian biologik dapat berupa pengujian mikroskopik dan pengujian bakteriologik (Hadiwiyoto, 1994).

2.6.1 Pengujian Secara Biologik

Pengujian bakteriologik secara umum ditujukan untuk mengetahui jumlah bakteri dalam susu segar. Untuk menentukan jumlah bakteri dapat digunakan beberapa cara, yaitu:

1. Jumlah bakteri secara keseluruhan (*Total Cell Count*).

Pada cara ini dihitung semua bakteri baik yang hidup maupun yang mati.

a. Menghitung langsung secara mikroskopik.

Pada cara ini dihitung jumlah bakteri dalam satuan isi yang sangat kecil, untuk itu digunakan kaca objek khusus yang bergaris (*Petroff-Hauser*) berbentuk bujur sangkar. Cara ini hanya dapat digunakan untuk cairan yang mengandung bakteri dalam jumlah tinggi.

b. Menghitung berdasarkan kekeruhan.

Dasar teknik ini adalah banyaknya cahaya yang diabsorpsi sebanding dengan banyaknya sel bakteri pada batas-batas tertentu. Umumnya untuk menghitung dengan cara ini digunakan turbidimetri.

2. Perhitungan bakteri hidup

Ada 3 cara perhitungan bakteri hidup, yaitu:

a. *Standard Plate Count*

Pada cara ini pengenceran dilakukan dengan menggunakan sejumlah botol pengencer yang diisi sampel dan aqua destilata steril. Agar cair didinginkan sampai suhu sekitar 44°C dan baru kemudian dituangkan ke cawan petri setelah agak membeku cawan dieramkan selama 24-48 jam (37°C).

b. *Plate Count*

Sampel dipipet lalu ditaruh dalam cawan petri kosong steril, lalu dituang dalam media agar yang mencair, dengan suhu sekitar $\pm 45^{\circ}\text{C}$ lalu digoyangkan dengan hati-hati sehingga sampel dan media tercampur rata kemudian dibiarkan memadat.

c. Agar sebar

Sebanyak 0.1 ml sampel ditaruh pada permukaan agar yang sudah memadat dalam cawan petri. Kemudian sampel ditaruh pada permukaan agar yang sudah memadat dalam cawan petri, lalu sampel diratakan di atas permukaan media tersebut dengan bantuan alat perata (Lay, 1994).

2.6.2 Pengujian Secara Mikroskopik

Pengujian secara mikroskopik ditujukan untuk mengetahui struktur dan bentuk-bentuk dari bakteri (Hadiwiyoto, 1994).

2.7 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri merupakan langkah untuk mencari dan menentukan nama dari suatu isolat bakteri berdasarkan morfologi dan uji biokimia sehingga dapat ditentukan spesies bakteri tersebut. Di dalam laboratorium dilakukan pengelolaan spesimen yang dimulai dari penanaman spesimen, isolasi dan identifikasi. Macam – macam perbenihan yang digunakan untuk isolat *Escherichia coli*, yaitu:

1). Agar *Eosin Biru Metilen* (EMB)

Merupakan media padat yang mengandung *eosin* dan *methylen blue* yang dapat dipergunakan untuk menentukan jenis bakteri *coli* dengan menggunakan hasil tes positif di dalam cawan petri. *Escherichia coli* akan tampak dengan warna hijau metalik dengan titik hitam. Media ini merupakan media selektif untuk bakteri Gram negatif dan mempunyai keistimewaan mengandung laktosa dan berfungsi untuk memilah mikroba yang memfermentasikan laktosa seperti *Escherichia coli*. Mikroba yang memfermentasikan laktosa menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap

dengan titik hitam (metalik), adanya *eosin* dan *methylene blue* membantu mempertajam perbedaan dengan koloni yang lain.

2). Agar *Deoksikholat Leifson (Mc. Conkey)*

Media ini mengandung agar-agar nutrien yang ditambah dengan garam empedu berwarna merah muda dan transparan. Media ini dipergunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme patogen usus. Pertumbuhan mikroorganisme lainnya akan dihambat.

3). Agar Darah

Media ini terdiri dari nutrien yang ditambahkan darah. Permukaannya tampak bergranular dan digunakan untuk menentukan mikroorganisme yang mampu merusak sel-sel darah merah yang disebut hemolitik (Suwandi, 1999).

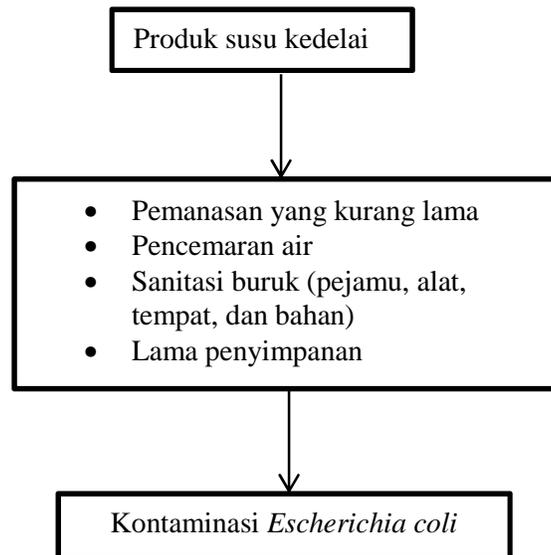
2.8 Metode Perhitungan Jumlah Bakteri

Ada beberapa macam cara untuk menghitung jumlah sel bakteri, antara lain dengan lempeng total cawan (*plate count*), hitungan mikroskopik langsung (*direct microscopic count*) atau MPN (*Most Probable Number*) (Fardiaz, 1992). Metode hitungan cawan menggunakan medium padat sedangkan pada metode MPN menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi. Perhitungan MPN berdasarkan jumlah tabung reaksi yang positif yakni ditumbuhi oleh mikroba setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif 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 3 atau 5 seri tabung. Lebih banyak tabung yang digunakan menunjukkan ketelitian yang lebih tinggi tetapi alat gelas (tabung reaksi) yang digunakan juga lebih banyak.

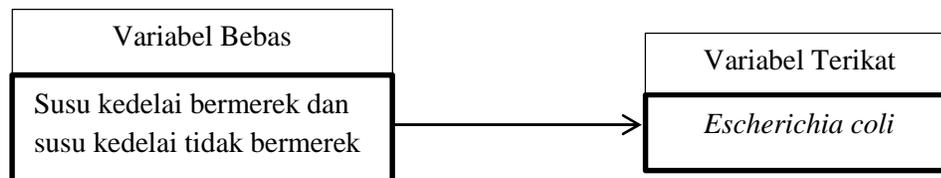
Dalam metode MPN, pengenceran sampel harus lebih tinggi daripada pengenceran pada hitungan cawan, sehingga beberapa tabung yang berisi medium cair yang diinokulasikan dengan larutan hasil pengenceran tersebut mengandung 1 jasad renik. Beberapa tabung mungkin mengandung lebih dari satu sel sedangkan tabung yang lain tidak mengandung sel sama sekali. Dengan demikian, setelah inkubasi diharapkan terjadi pertumbuhan pada beberapa tabung yang dinyatakan sebagai tabung positif sedangkan tabung lainnya negatif. Metode MPN biasanya digunakan untuk menghitung jumlah mikroba di dalam sampel yang berbentuk cair, meskipun dapat juga digunakan untuk sampel yang berbentuk padat dengan terlebih dahulu membuat suspensi 1:10 dari sampel tersebut. Kelompok jasad renik yang dapat dihitung dengan metode MPN juga bervariasi tergantung dari medium yang digunakan untuk pertumbuhan (Halubangga, 2013).

2.9 Kerangka Teori



Gambar 2. Kerangka Teori Penelitian
Sumber: (Tri Agung Sanjaya, 2013)

2.10 Kerangka Konsep



Gambar 3. Kerangka Konsep Penelitian

2.11 Hipotesis

H₀: Tidak terdapat bakteri *Escherichia coli* pada susu bermerek dan tidak bermerek.

H₁: Terdapat bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai bermerek dan tidak bermerek.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan deskriptif *observasional* dengan pendekatan *cross sectional* dan rancangan penelitian ini bertujuan untuk menghitung jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang terdapat pada minuman susu kedelai bermerek dan tidak bermerek di Bandar Lampung. Untuk menentukan adanya bakteri *coliform* dan jumlah bakteri *coliform* di dalam susu kedelai dipakai sistem *Multiple Tubes* dengan menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*), selain itu melakukan uji IMVIC (*Indole, Methyl-Red, Voger Proskauer, Citrate*) dan uji fermentasi karbohidrat atau uji gula-gula.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan September – Oktober 2016.

3.3 Subyek Penelitian

Adapun subjek yang digunakan pada penelitian ini adalah:

1. Populasi

Populasi target dalam penelitian ini adalah warung, *minimarket* ataupun *supermarket* yang menjual berbagai merek susu kedelai, sedangkan untuk susu kedelai tanpa merek didapatkan dari beberapa warung atau jajanan kantin sekolah, pinggir jalan maupun produksi rumah tangga.

2. Sampel

Pemilihan dilakukan secara acak yaitu menggunakan teknik *Probability Sampling* dengan metode *Simple Random Sampling* hingga kuota sampel terpenuhi, dengan memperhitungkan penyebaran sampel, waktu dan biaya. Penelitian ini merupakan penelitian. Rumus besar sampel yang digunakan adalah (Lemeshow, 1997) :

$$n = \frac{Z^2 \alpha p q}{d^2} = \frac{Z^2 \alpha p (1-p)}{d^2}$$

Keterangan: n = jumlah sampel minimal yang diperlukan

Z^2 = derajat kepercayaan (95%=1,96)

p = proporsi susu kedelai yang memenuhi syarat (60%)

q = proporsi susu kedelai yang tidak memenuhi syarat (40%)

d = limit dari error atau presisi absolut (20 %)

sehingga diperoleh jumlah sampel sebagai berikut:

$$n = \frac{1,96^2 \times 0,6 \times 0,4}{0,2^2}$$

$$n = \frac{3,8416 \times 0,6 \times 0,4}{0,2^2}$$

$$n = \frac{0,9219}{0,04}$$

n = 23,0475 , dibulatkan menjadi 23 sampel

Keterangan: nilai p dan q berdasarkan hasil penelitian (Sirait, 2010)

3. Aspek Pengukuran

Aspek pengukuran penelitian ini adalah kuantitas bakteri (bakteri *E. coli*) pada minuman susu kedelai yang dipasarkan di berbagai tempat di Kota Bandar Lampung. Pengukuran dilakukan dengan pemeriksaan laboratorium, kemudian dicocokkan dengan tabel SNI 2897-2008, memenuhi persyaratan jika total bakteri *E. coli* < 3 MPN/ml, dan tidak memenuhi persyaratan jika > 3 MPN/ml. Perhitungan tabel MPN seri tiga tabung dengan selang kepercayaan 95% untuk kombinasi hasil positif dan tabung pengenceran yang digunakan (0,1 ml, 0,01 ml dan 0,001 ml) (BSN, 2009) sesuai tabel 4.

Tabel 4. MPN seri tiga tabung

Jumlah tabung positif (3 tabung)			MPN/g	Batas kepercayaan 95%	
0,1 g	0,01 g	0,001 g		Bawah	Atas
0	0	0	< 3,0	-	9,5
0	0	1	3	0,15	9,6
0	1	0	3	0,15	11
0	1	1	6,1	1,2	18
0	2	0	6,2	1,2	18
0	3	0	9,4	3,6	38
1	0	0	3,6	0,17	18
1	0	1	7,2	1,3	18
1	0	2	11	3,6	38
1	1	0	7,4	1,3	20
1	1	1	11	3,6	38
1	2	0	11	3,6	42
1	2	1	15	4,5	42
1	3	0	16	4,5	42
2	0	0	9,2	1,4	38
2	0	1	14	3,6	42
2	0	2	20	4,5	42
2	1	0	15	3,7	42
2	1	1	20	4,5	42
2	1	2	27	8,7	94
2	2	0	21	4,5	42
2	2	1	28	8,7	94
2	2	2	35	8,7	94
2	3	0	29	8,7	94
2	3	1	36	8,7	94
3	0	0	23	4,6	94
3	0	1	38	8,7	110
3	0	2	64	17	180
3	1	0	43	9	180
3	1	1	75	17	200
3	1	2	120	37	420
3	1	3	160	40	420
3	2	0	93	18	420
3	2	1	150	37	420
3	2	2	210	40	430
3	2	3	290	90	1.000
3	3	0	240	42	1.000
3	3	1	460	90	2.000
3	3	2	1.100	180	4.100
3	3	3	> 1.100	420	--

(Badan Standarisasi Nasional, 2009)

3.4 Objek Penelitian

Penelitian ini menggunakan susu kedelai yang bermerek dan tidak bermerek di Kota Bandar Lampung. Susu kedelai bermerek yang dijadikan objek penelitian adalah susu kedelai yang sudah memiliki izin P-IRT (Pangan Industri Rumah Tangga) dari pihak terkait (Dinkes). Nomor izin tersebut dapat terlihat pada kemasan luar susu kedelai, sedangkan susu kedelai tanpa merek yang diteliti adalah produk minuman susu kedelai yang dipasarkan tanpa mencantumkan nomor izin (No. P-IRT) dari Dinkes.

3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional penelitian merupakan penjelasan dari masing-masing variabel yang digunakan dalam penelitian terhadap indikator-indikator yang membentuknya. Definisi operasional penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 5. berikut ini :

Tabel 5. Definisi Operasional Penelitian

Jenis Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil	Skala
1. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang, memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. <i>E. coli</i> membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz <i>et al.</i> , 2012).	1. Tabel MPN 2. Pewarnaan Gram	1. Uji MPN	1. Jumlah koliform dengan koloni hijau kilap logam 2. Bakteri Gram Negatif dengan bentuk kokobasil 3. (+) jika terdapat koloni bakteri <i>E. coli</i> (-) jika tidak terdapat koloni bakteri <i>E. coli</i>	Nominal
2. Susu Kedelai	Susu kedelai bermerek yang dijadikan objek penelitian adalah susu kedelai yang sudah memiliki izin P-IRT (Pangan Industri Rumah Tangga) dari pihak terkait (Dinkes). Susu kedelai yang dalam bentuk kemasan dijual di <i>supermarket</i> , <i>minimarket</i> atau warung.	Gelas ukur 100ml, 10ml, <i>Beaker glass</i>	Diukur dengan <i>Beaker glass</i> hingga 25ml	Bermerek	Nominal
	Produk minuman susu kedelai yang dipasarkan tanpa mencantumkan nomor izin (No. P-IRT) dari Dinkes. Susu kedelai yang didapat di jajanan pasar	Gelas ukur 100ml, 10ml, <i>Beaker glass</i>	Diukur dengan <i>Beaker glass</i> hingga 25ml	Tidak bermerek	Nominal

atau warung
pinggir jalan
dalam bentuk
kemasan plastik
non-steril

3.6 Identifikasi Variabel

Dalam penelitian ini digunakan beberapa variabel yang nantinya akan digunakan dalam penelitian. Variabel dalam penelitian ini dibagi ke dalam beberapa bagian, yaitu variabel independen dan dependen.

3.6.1 Variabel Independen

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah susu kedelai bermerek dan susu kedelai tidak bermerek di Kota Bandar Lampung.

3.6.2 Variabel Dependen

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada minuman susu kedelai.

3.7 Metode Pengumpulan Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah data primer diperoleh dari hasil pemeriksaan laboratorium sampel susu kedelai bermerek dan tidak bermerek, meliputi jumlah bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai di Kota Bandar Lampung.

3.8 Bahan Penelitian

3.8.1 Mikroba Uji Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan beberapa mikroba uji, diantaranya adalah bakteri bakteri gram negatif (-) yaitu *Escherichia coli*.

3.8.2 Bahan Uji Penelitian

Dalam penelitian ini digunakan beberapa bahan uji yaitu susu kedelai bermerek dan susu kedelai tidak bermerek

3.8.3 Media Kultur

Pembuatan media dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Daerah menggunakan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) untuk memastikan adanya bakteri *Escherichia coli*.

3.9 Pengolahan Data dan Analisis Data

3.9.1 Pengolahan Data

Data hasil pemeriksaan kualitas susu kedelai di laboratorium kemudian hasilnya dibandingkan dengan SNI 2897-2008 tentang susu kedelai.

3.9.2 Analisa Data

Data yang sudah diolah kemudian dinilai kuantitas bakteriologis *E. coli* disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan dalam bentuk narasi.

3.9 Cara Kerja Penelitian

3.9.1 Tahap Persiapan

3.9.1.1 Persiapan Alat Dan Bahan

Adapun alat yang digunakan dalam penelitian adalah:

- 1) *Autoclave*
- 2) *Incubator*
- 3) Labu Erlenmeyer
- 4) Rak tabung reaksi
- 5) Tabung reaksi
- 6) Kawat ose
- 7) Tabung durham
- 8) Pipet ukuran 1ml, 2ml, 5ml, 10ml
- 9) Bunsen
- 10) Termos es
- 11) *Beaker glass*
- 12) Gelas ukur
- 13) Cawan petri
- 14) *Laminar air flow*

15) Termos es

16) Pengocok tabung (vortex)

Adapun bahan yang digunakan adalah:

1) BPW (*Buffer Peptone Water*) 0,1%

2) *Lactosa Broth*

3) BGLBB (*Brilliant Green Lactose Bile Broth*)

4) Media L-EMBA (*Levine Eosin Methylene Blue Agar*)

5) LSTB (*Lauryl Sulfate Tryptose Broth*)

6) ECB (*Escherichia coli Broth*)

7) PCA (*Plate Count Agar*)

8) MR-VP (*Methyl Red-Voger Proskauer*)

9) KCB (*Koser Citrate Broth*)

10) Reagen Kovas

3.9.1.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan penelitian disterilisasi, kecuali susu kedelai, agar terhindar dari senyawa atau mikroorganisme lain yang mungkin dapat mempengaruhi hasil penelitian, dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15-20 menit. Alat-alat yang digunakan ditunggu sehingga mencapai suhu kamar dan kering.

3.10.1.3 Pengambilan Sampel

Masing-masing diambil sampel dari susu kedelai berbagai merek yang dibeli di pasar swalayan dan susu kedelai tidak bermerek yang dibungkus oleh plastik non-steril dimasukkan ke dalam termos es dan dibawa ke Laboratorium Kesehatan Daerah Bandar Lampung pada hari yang sama.

3.9.2 Tahap Pengujian

3.10.2.1 Menghitung *Most Probable Number* (MPN)

Hal ini meliputi beberapa tahapan yaitu :

a. Uji Perkiraan (*Presumptive test*)

Memindahkan 1ml larutan pengenceran 10^{-1} tersebut dengan pipet steril ke dalam larutan 9 ml BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} . Dengan cara yang sama seperti di atas dibuat pengenceran 10^{-3} . Pipet masing-masing 1 ml dari setiap pengenceran ke dalam 3 seri tabung LSTB yang berisi tabung Durham. Inkubasi pada temperatur 35°C selama 24 jam sampai dengan 48 jam. Perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung Durham. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas.

b. Uji Penegasan (*Confirmation test*)

Pengujian harus selalu disertai dengan menggunakan kontrol positif. Pindahkan biakan positif dari uji perkiraan dengan menggunakan jarum inokulasi dari setiap tabung LSTB ke dalam tabung ECB yang berisi tabung *Durham*. Inkubasikan ECB pada temperature 45,5°C selama 24 jam \pm 2 jam, jika hasilnya negative inkubasikan kembali selama 48 jam \pm 2jam. Perhatikan adanya gas yang terbentuk di dalam tabung *Durham*. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk gas. Selanjutnya gunakan tabel *Most Probable Number* (MPN) untuk menentukan nilai MPN berdasarkan jumlah tabung ECB yang positif mengandung gas di dalam tabung *Durham* sebagai jumlah *E. coli* per milliliter atau per gram.

c. Uji Lengkap (*Complete test*)

Membuat goresan pada media L-EMBA dari tabung ECB yang positif, inkubasi pada temperatur 35°C selama 18 jam sampai dengan 24 jam. Koloni yang diduga *E. coli* berdiameter 2 mm sampai dengan 3 mm, warna hitam atau gelap pada bagian pusat koloni, dengan atau tanpa metalik kehijauan yang mengkilat pada media L-EMBA. Ambil koloni yang diduga dari masing-masing media L-EMBA dengan menggunakan ose, dan pindahkan ke PCA miring.

Inkubasikan PCA miring pada temperatur 35°C selama 18 jam sampai dengan 24 jam untuk uji biokimia.

d. Interpretasi hasil

Banyaknya koliform yang terdapat dalam contoh uji diinterpretasikan dengan mencocokkan kombinasi jumlah tabung yang memperlihatkan hasil positif, berdasarkan tabel MPN (Tabel 4.). Kombinasi yang diambil, dimulai dari pengenceran tertinggi yang masih menghasilkan semua tabung positif, sedangkan pada pengenceran berikutnya terdapat tabung yang negatif. Kombinasi yang diambil terdiri dari tiga pengenceran. Nilai MPN dihitung dengan cara sebagai berikut:

$$\text{MPN contoh (MPN/ml atau MPN/g)} = \frac{\text{nilai MPN tabel}}{100} \times \text{faktor}$$

pengencer yang di tengah

3.10.2.2 Uji Biokimia Bakteri

1. Uji Triple Sugar Iron Agar (TSIA)

Agar TSIA untuk menilai kemampuan bakteri memfermentasi glukosa, laktosa, dan sukrosa. Hal ini ditandai dengan perubahan warna akibat timbulnya suasana asam, serta terbentuknya H₂S yang ditandai dengan perubahan warna media dari orange menjadi hitam, karena

bakteri mampu mendesulfurasi asam amino dan metion yang akan menghasilkan H_2S , dan H_2S akan bereaksi dengan Fe^{+2} yang terdapat pada media yang menghasilkan endapan hitam. Hasil fermentasi diamati pada 2 tempat, yaitu bagian miring dan bagian dasar.

2. Uji Sulfur Indole Motility (SIM)

Agar SIM adalah agar semisolid yang digunakan untuk menilai adanya hidrogen sulfida, timbulnya indol akibat enzim tryptophanase yang ditandai dengan berubahnya larutan Kovacs menjadi merah, serta pergerakan bakteri.

3. Uji Sitrat

Uji ini digunakan untuk melihat kemampuan suatu bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber utama metabolisme dan pertumbuhan. Hasil positif apabila agar sitrat yang semula berwarna hijau berubah menjadi biru yang ditimbulkan akibat suasana asam.

4. Uji Urea

Uji hidrolisis urea dilakukan untuk melihat bakteri mampu menghasilkan enzim urease. Timbulnya warna merah muda berarti reaksi positif dan negatif warna tidak berubah.

5. Uji gula-gula

Larutan gula yang dipakai adalah glukosa, laktosa, maltosa, manitol, dan sukrosa. Uji ini didasarkan atas kemampuan bakteri untuk memfermentasi gula-gula tersebut yang ditandai dengan perubahan warna dari biru menjadi kuning.

6. Interpretasi Hasil Uji Biokimia

Dinyatakan positif *Escherichia coli* bila hasil uji TSIA SIM adalah lereng kuning dasar kuning, gas positif, sulfur negatif, indol positif, motiliti positif/negatif, sitrat negatif, dan urea negatif. Sedangkan pada uji fermentasi karbohidrat adalah glukosa positif, laktosa positif, manitol negatif, dan sukrosa positif (semua uji fermentasi positif kecuali uji manitol) (Soemarno, 2003).

3.10.2.3 Pewarnaan Gram

Pengambilan koloni pada EMBA yang berwarna hitam atau gelap pada bagian pusat koloni, dengan atau tanpa metalik kehijauan yang mengkilap dengan ose. Kemudian letakkan di atas kaca preparat, fiksasi di atas api dengan cara melewatkan kaca preparat di atas api sebanyak dua kali. Teteskan gentian violet sampai sampai seluruh lingkaran tertutupi, tunggu sampai 5 menit. Bersihkan di atas air

mengalir. Lalu teteskan lugol dan tunggu hingga 1 menit. Bersihkan kembali di atas air mengalir. Teteskan alkohol pada seluruh permukaan sampai tidak ada warna yang luntur kembali. Bersihkan kembali di atas air mengalir. Teteskan safranin dan tunggu hingga 2 menit. Bersihkan kembali di atas air mengalir. Keringkan preparat di atas tisu.

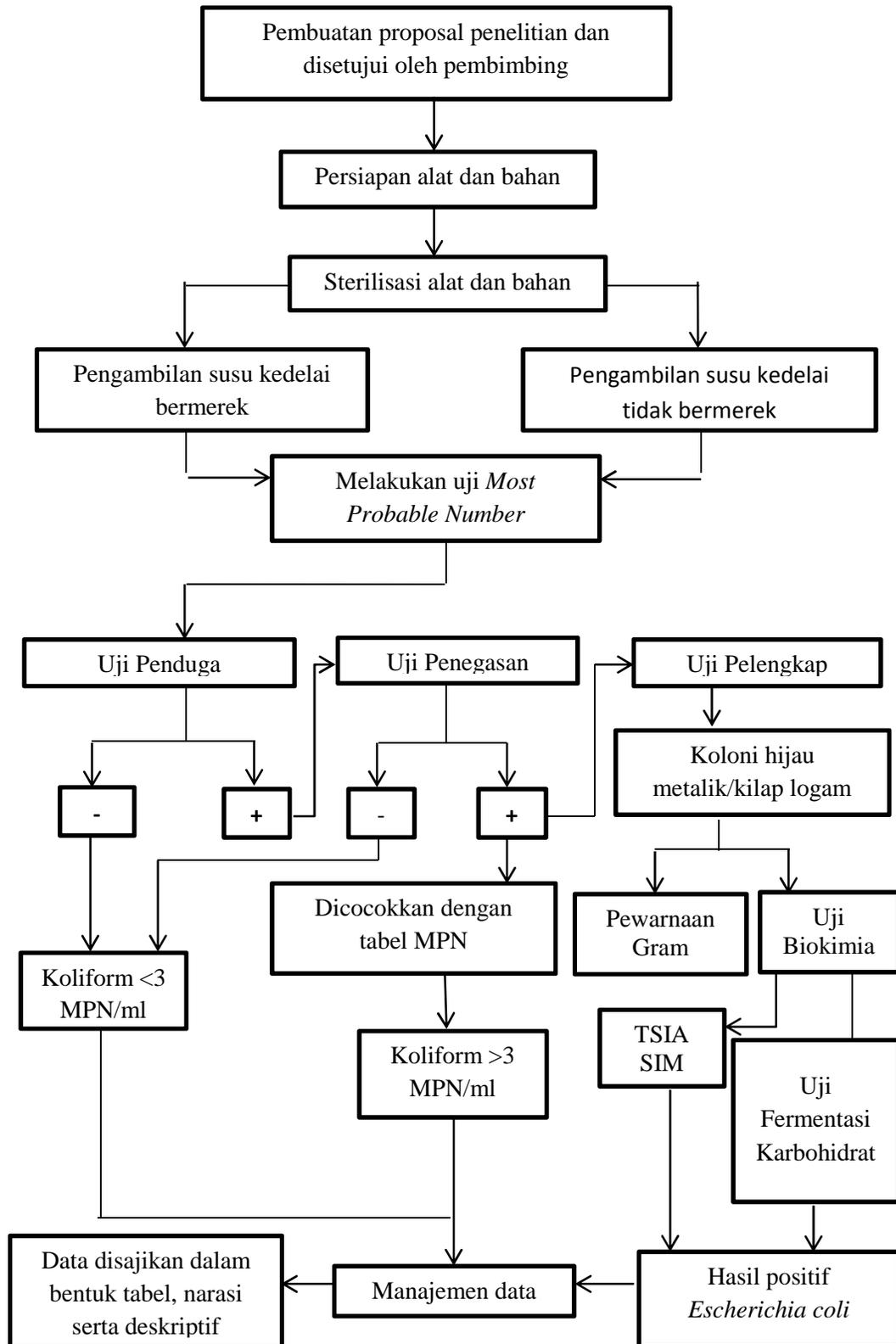
3.10.2.4 Pemeriksaan Mikroskop

Meneteskan minyak imersi terlebih dahulu sebanyak satu tetes. Kemudian periksa preparat di bawah mikroskop dari perbesaran paling kecil terlebih dahulu. Setelah menemukan letakkan koloni, ganti perbesaran hingga 100 kali. Bentuk *Escherichia coli* yang sesuai adalah berwarna merah, bentuk batang pendek, dan koloni tunggal.

3.10 Etika Penelitian

Pada penelitian ini, peneliti mempersiapkan formulir persetujuan objek serta menjaga kerahasiaan objek penelitian dengan cara peneliti tidak menampilkan informasi mengenai identitas kepada orang lain. Selanjutnya peneliti telah meminta keterangan kelayakan etik dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor

3.12 Alur Kerja



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian ini didapatkan kesimpulan sebagai berikut:

1. Hasil penelitian pada sebelas sampel susu kedelai kedelai bermerek tidak ditemukan *coliform* maupun bakteri *Esherichia coli*.
2. Hasil penelitian diperoleh empat dari dua belas sampel susu kedelai tidak bermerek terdapat koliform yang melebihi batas ambang maksimum sesuai dengan SNI 2897-2009. Tetapi tidak ada bakteri *Escherichia coli* dari empat sampel hasil uji penegasan melainkan bakteri patogen lain yaitu dua sampel bakteri *Klebsiella pneumonia* dan dua sampel lainnya bakteri *Pseudomonas aerogenosa*.

5.2 Saran

Adapun saran yang dapat disimpulkan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Peneliti lain perlu melakukan penelitian lagi tentang parameter lain yaitu jenis cemaran mikroba seperti ALT, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, dan *Kapang*. Sesuai dengan batas maksimum SNI 7388-2009.

2. Peneliti lain juga perlu memeriksa kemasan plastik yang biasa digunakan untuk membungkus minuman susu kedelai untuk memeriksa kemungkinan kemasan plastik terkontaminasi bakteri *coliform*
3. Peneliti selanjutnya diharapkan melakukan penelitian lebih dalam mengenai proses pembuatan minuman susu kedelai, dimulai dari proses pemilihan bahan baku, penyimpanan bahan baku, pengolahan, penyimpanan bahan jadi, distribusi, hingga penyajian dan pemasaran minuman.
4. Kepada produsen minuman susu kedelai diharapkan kesadaran serta tanggung jawabnya mengenai keamanan produknya dengan memperhatikan cara pengolahan yang baik dan benar sesuai standar.
5. Sebagai konsumen, masyarakat hendaknya teliti dalam memilih produk susu kedelai, baik yang sudah bermerek maupun yang belum memiliki merek.
6. Masyarakat perlu diberikan pelatihan-pelatihan mengenai bagaimana pengolahan susu kedelai yang tepat, sehingga setiap produsen susu kedelai mengerti cara pembuatan susu kedelai yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abduh SBM, Mulyani S, Susilawati T. 2013. Reduksi Bakteri Dan Biru Metilen, Serta Perubahan Intensitas Pencoklatan Dan pH Susu Akibat Pemanasan Pada Suhu 80°C Dalam Periode Yang Bervariasi. *Animal Agriculture Journal*. 2(3):123–131.
- Adebayo-Tayo BC, Adegoke AA, Akinjogunla OJ. 2008. Microbial and physico-chemical quality of powdered soymilk samples in Akwa Ibom, South Southern Nigeria. *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (13), pp. 3066-3071
- Adeleke OE, Adeniyi BA, Akinrinmisi AA. 2000. Microbiological Quality of Local Soymilk : a Public Health. *African Journal of Biomedical Research*. 3:89–93.
- Adila R, Nurmiati, Agustien A. 2013. Uji Antimikroba Curcuma spp. Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. Vol : 3 No :1
- Agboke AA, Osonwa UE, Oporum CC, Ibezim EC. 2011. Evaluation of microbiology quality of some soybean milk products consumed in Nigeria. *Prime Research on Medicine*. 1(2):25–30.
- Andriani. 2008. *Escherichia coli* Sebagai Penyebab Penyakit Zoonosis. *Jurnal Litbang Deptan*. Hal. 173 – 176.
- Balia RL, Harlia E, Suryanto D. 2008. Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu Segar Peternakan Sapi Perah Rakyat dan Susu Pasteurisasi Tanpa Kemasan di Pedagang Kaki Lima. Dalam: Prosiding ‘Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas 2020’. Pusat Penelitian dan Pengembangan Peternakan bekerja sama dengan Sekolah Tinggi Ilmu Ekonomi Keuangan dan Perbankan Indonesia. Jakarta

- Badan Standarisasi Nasional. 1998. Standar Nasional Indonesia No. 01 – 3141:2000. Susu Segar. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. Standar Nasional Indonesia (SNI). No. 7388-2009 tentang Batas maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan. Jakarta.
- Buckle KA. *et al.* 2009. *Ilmu Pangan*. Jakarta: UI-Press
- Cahyadi W. 2008. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. Jakarta : Bumi Aksara.
- Chandra, Budiman. 2007. Pengantar Kesehatan Lingkungan. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran. Hal. 124, dan 144-147.
- Depkes RI. 2004. Hygiene Sanitasi Makanan dan Minuman. Jakarta: Dirjen PPM dan PL
- Dinas Kesehatan Kota. 2015. Profil Kesehatan Kota Bandar Lampung. Bandar Lampung: DKK.
- Fardiaz S. 1993. Petunjuk Laboratorium Mikrobiologi Pengolahan Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
- Habullah R, Fatimawali NK. 2015. Analysis of Coliform Bacteria Contamination and Escherichia coli soy milk sold in Supermarkets of Manado city. PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi. 4(1):20–31.
- Hadiwiyoto S. 1994. Teori dan Prosedur Pengujian Mutu Susu dan Hasil Olahannya. Edisi II. Penerbit Liberty, Yogyakarta.

Harish K, Varghese T. 2006. Probiotics in Humans—Evidence Based Review. Calicut Medical Journal. 4(3).

Helpida, Gustina II. 2014. Uji Bakteriologis Susu Kedelai Produk Rumah Tangga Yang Di Jual Dipasaran. Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang, 2(c), 41–44.

InfoPOM. 2008. Pengujian Mikrobiologi Pangan. Jakarta Pusat. 9(2). hal. 2-3

Iwe MO. 2003. The science and technology of soybean. Rejoint communication Services Ltd pp 145

Jawetz *et al.* 2001. Mikrobiologi Kedokteran, Buku I, Edisi I, Alih bahasa: Bagian Mikrobiologi. FKU Unair, Salemba Medika. Jakarta. Indonesia.

Juliantina FR. 2008. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen anti bakterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. JKKI – Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia.

Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 942/Menkes/SK/VII/2003 tentang Pedoman Persyaratan Hygiene Sanitasi Makanan Jajanan, Depkes RI.

Kolapo AL, Oladimeji GR. 2008. Production and quality evaluation of soy-corn milk. Journal of Applied Biosciences. Vol.1 (2): 40 - 45.

Koswara S. 2005. Susu dan Yoghurt Kedelai. Tersedia dari: <http://www.ebookpangan.com>.

Koswara S. 2006. Isoflavon, Senyawa Multi-Manfaat Dalam Kedelai. Tersedia dari: <http://ebookpangan.com>.

Law RJ, Gur-arie L, Rosenshine I, Finlay BB, Behnsen J, Deriu E, Finlay BB. 2013. In Vitro and In Vivo Model Systems for Studying Enteropathogenic Escherichia coli Infections. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 3.

Lay WB. 1994. Microbes analysis in laboratory. Raja Grafindo Persada, Jakarta.

Lemeshow S, David WHJ. 1997. Besar Sampel dalam Penelitian Kesehatan, Gadjahmada University Press, Yogyakarta.

Madukwe EU, Eme PE, Okpara CE. 2013. Nutrient content and microbial quality of soymilk-carrot powder blend. Pakistan Journal of Nutrition. 12(2):158–161.

Margono T, Suryati D. 1993. Susu kedelai. Jakarta: Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. Tersedia dari: <http://www.ristek.go.id>

Marriot N. Principles of food sanitation. Van Nostrand Reinhold company, New York. 1985: 70- 80.

Maulidah, Luluk. 2006. Ragam Karakter Morfologi Polong Kedelai (*Glycine max* L. Merrill) Dan Hubungannya Dengan Ketahanan Terhadap Hama Pengisap Polong *Riptortus linearis* F. Skripsi. Malang: Universitas Muhammadiyah Malang

Mbajiuka CS, Ugwu GU. 2014. Isolation And Identification Of Microorganisms Involved In The Spoilage Of Soymilk. IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS). 9(5):29–36.

Melliawati, R. 2009. *Escherichia Coli* (Vol. 4). BioTrends.

Muchtaridi. 2008. Pembuatan susu kedelai. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.

- Norajit K, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. 2007. Antibacterial Effect of Five Zingiberaceae Essential Oils. *Molecules*. 12:2047-2060.
- Novalinda D. 2010. Teknologi Pengolahan Susu Kedelai Berkualitas. *BPTP Jambi*. Tersedia dari: www.jambi.litbang.deptan.go.id
- Nuning. 2011. Analisis Sikap Dan Perilaku Pembaca Surat Kabar Terhadap Iklan Susu Kedelai. Universitas Brawijaya Fakultas Pertanian.
- Murtiningtyas S. 2016. Uji Bakteri *Escherichia Coli* Pada Minuman Susu Kedelai Dari Beberapa Penjual Susu Kedelai Di Kota Surakarta.
- Putra GS. 2010. Kinerja perusahaan. Universitas Indonesia. 1-8.
- Sanjaya TA. 2013. Deteksi *Escherichia coli* Pada Jajanan Cendol Yang Dijual Di Pasar Tradisional. *MAJORITY (Medical Journal of Lampung University)*, 10–17.
- Sirait, Efni U. 2009. Hygiene Sanitasi Pengolahan dan Pemeriksaan *Escherichia coli* Dalam Susu Kedelai Pada Usaha Kecil Di Kota Medan. Skripsi. Medan: Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Sumatra Utara
- Soemarno. 2003. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Akademi Analisis Kesehatan Yogyakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Yogyakarta.
- Suwandi U. 1999. Peran Media Untuk Identifikasi Mikroba Patogen. Cermin Dunia Kedokteran. Jakarta
- Thombare DT, Shende RT, Nirgude MS, Shinde HS. (2015). Microbiological Analysis Of Soy Milk Produced From Soybean. *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*. 1(5):41–42

Wijayanti S. 2009. Identifikasi dan Pemeriksaan Jumlah Total Bakteri Susu Sapi Segar dari Koperasi Unit Desa di Kabupaten Boyolali.

Winarni I. 2013. Isolasi dan karakterisasi bakteri patogen pada benih padi dan kedelai. *Matematika, Sains, Dan Teknologi*. 14:135–141.