

PENGUJIAN NATA DE COCO SECARA BAKTERIOLOGIS

KARYA TULIS ILMIAH

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan sebagai
Ahli Madya Analis Kesehatan**



Oleh :

**Iiyin Syafiatullah
33152824J**

**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

KARYA TULIS ILMIAH :

PENGUJIAN NATA DE COCO SECARA BAKTERIOLOGIS

Oleh :

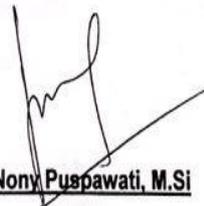
ILIYIN SYAFIATULLAH

33152824J

Surakarta, 26 April 2018

Menyetujui Untuk Ujian Sidang KTI

Pembimbing



Dra. Nony Puspawati, M.Si

NIS. 01198311012003

LEMBAR PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah :

PENGUJIAN NATA DE COCO SECARA BAKTERIOLOGIS

Oleh :

ILIYIN SYAFIATULLAH

33152824J

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji

Pada Tanggal 12 Mei 2018

| | Nama | Tanda Tangan |
|-------------|-------------------------------------|---|
| Penguji I | : Rahmat Budi Nugroho, S. Si., M.Sc |  |
| Penguji II | : Rizal Maarif Rukmana, S.Si., M.Sc | |
| Penguji III | : Dra. Nony Puspawati, M. Si | |

Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Setia Budi



Prof. dr. Marsetyawan HNES, M. Sc. Ph.D
NIDN 0029094802

Ketua Program Studi

DIII Analisis Kesehatan

Dra. Nur Hidayati, M.Pd
NIS. 01198909202067

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO

"orang yang menuntut ilmu berarti menuntut rahmat ; orang yang menuntut ilmu berarti menjalankan rukun Islam dan Pahala yang diberikan kepadanya sama dengan para Nabi"

(HR. Dailani dari Anas r.a)

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini kupersembahkan untuk :

1. Orangtuaku tercinta
2. Adik-adikku
3. Kakek dan nenek
4. Saudara-saudaraku serta kawan-kawan yang memberi semangat

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT atas segala berkah. Rahmat, dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan program pendidikan D-III Analis Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.

Karya Tulis Ilmiah dengan judul “PENGUJIAN *NATA DE COCO* SECARA BAKTERIOLOGIS” yang telah disusun ini semoga dapat bermanfaat untuk dunia pendidikan khususnya di Universitas Setia Budi

Berkat bimbingan, dorongan serta bantuan dari berbagai pihak yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini. Maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa penghormatan serta terimakasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. dr. Marsetyawan HNE S, M. Sc., Ph. D. selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi.
3. Dra. Nur Hidayati, M.Pd., selaku Ketua Jurusan Program D III Analis Kesehatan.
4. Dra. Nony Puspawati, M.Si selaku pembimbing Karya Tulis Ilmiah yang telah sabar memberikan petunjuk, pengarahan serta bimbingan sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat terselesaikan tepat pada waktunya.
5. Bapak/Ibu Dosen serta Asisten Dosen Universitas Setia Budi yang telah memberikan dan membekali penulis dengan berbagai ilmu pengetahuan selama masa perkuliahan.
6. Pranata Laboratorium yang telah membantu selama praktikum pembuatan Karya Tulis Ilmiah ini.

7. Kedua orangtuaku dan keluargaku yang senantiasa memberikan doa, dukungan dan semangat.
8. Rekan-rekan kost : Ana, Ina, Ika, Zuraida, Maya, Berli dan Diana yang selalu memberi motivasi dan semangat untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
9. Teman-teman Analis Kesehatan angkatan 2015 khususnya teori 1 yang memberi semangat untuk menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini belum sempurna, baik dari segi ilmiah dan bahasa penulisannya. Oleh karena itu, dengan rendah hati penulis mengharapkan saran serta kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan Karya Tulis Ilmiah ini.

Akhir kata, penulis berharap semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Surakarta, 26 April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|-------------------------------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PERSETUJUAN | Error! Bookmark not defined. |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| MOTTO DAN PERSEMBAHAN | iv |
| KATA PENGANTAR | v |
| DAFTAR ISI | vii |
| DAFTAR TABEL | ix |
| DAFTAR LAMPIRAN | x |
| INTISARI | xii |
| BAB I PENDAHULUAN..... | 1 |
| 2.1 Latar Belakang | 1 |
| 2.2. Rumusan Masalah..... | 2 |
| 2.3. Tujuan Penelitian..... | 2 |
| 2.4. Manfaat Penelitian..... | 2 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... | 4 |
| 2.1. Kelapa (<i>Cocos nucifera</i>) | 4 |
| 2.1.1. Kegunaan..... | 4 |
| 2.1.2. Air Kelapa..... | 5 |
| 2.2. <i>Nata de Coco</i> | 6 |
| 2.3. <i>Acetobacter xylinum</i> | 7 |
| 2.3.1. Klasifikasi | 7 |
| 2.3.2. Morfologi dan Sifat <i>Acetobacter xylinum</i> | 7 |
| 2.4. Proses Pembuatan <i>Nata de Coco</i> | 8 |
| 2.4.1. Penyiapan Bakteri Murni..... | 8 |
| 2.4.2. Pembuatan Starter | 8 |
| 2.4.3. Fermentasi Nata..... | 9 |
| 2.4.4. Panen dan pencucian..... | 9 |
| 2.5. Bakteri Pencemar <i>Nata de Coco</i> | 10 |
| 2.5.1 <i>Escherichia coli</i> | 10 |
| 2.5.2. <i>Salmonella</i> | 13 |

| | | |
|------------------------------------|--|----|
| 2.6. | Cara Pemeriksaan Bakteri Pencemar pada <i>Nata De Coco</i> | 17 |
| 2.6.1. | Metode MPN (Most Probable Number) | 17 |
| 2.6.2. | Identifikasi Bakteri <i>Salmonella sp.</i> | 18 |
| BAB III METODOLOGI PENELITIAN..... | | 20 |
| 3.1. | Tempat dan Waktu Penelitian..... | 20 |
| 3.2. | Alat dan Bahan..... | 20 |
| 3.2.1 | Alat | 20 |
| 3.2.2 | Bahan | 20 |
| 3.3. | Reagensia | 20 |
| 3.4. | Persiapan Sampel | 21 |
| 3.5. | Prosedur Kerja..... | 21 |
| 3.5.1. | Most Probable Number (MPN)..... | 21 |
| 3.5.2. | Uji <i>Salmonella sp.</i> | 21 |
| BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN..... | | 23 |
| 4.1. | Hasil Pengujian..... | 23 |
| 4.1.1. | Hasil Uji MPN dari sampel A dan B..... | 23 |
| 4.1.2. | Uji Isolasi dan Identifikasi <i>Salmonella sp.</i> | 24 |
| 4.2 | Pembahasan | 25 |
| BAB V KESIMPULAN DAN SARAN..... | | 30 |
| 5.1. | Kesimpulan..... | 30 |
| 5.2. | Saran..... | 30 |
| DAFTAR PUSTAKA | | |

DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 2. 1. Kandungan Komposisi Kimia Air Kelapa | 5 |
| Tabel 2. 2 Persyaratan <i>Nata de coco</i> menurut BPOM nomor 16 tahun 2016 | 17 |
| Tabel 4. 1. Hasil sampel A Uji MPN <i>Escherichia coli</i> | 23 |
| Tabel 4. 2 Hasil sampel B Uji MPN <i>Escherichia coli</i> | 23 |
| Tabel 4. 3 Hasil A uji <i>Salmonella sp.</i> | 24 |
| Tabel 4. 4. Hasil B Uji <i>Salmonella sp.</i> | 24 |
| Tabel 4. 5. Hasil uji biokimia | 25 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|-----|
| Lampiran 1. Gambar sampel..... | L-1 |
| Lampiran 2. Hasil pengujian MPN..... | L-2 |
| Lampiran 3. Hasil uji salmonella..... | L-5 |
| Lampiran 4. Tabel MPN per 100 ml sampel (3 tabung tiap seri pengenceran).. | L-8 |
| Lampiran 5. Komposisi Media..... | L-9 |

INTISARI

Syafiatullah, I. 2018. Pengujian *Nata De Coco* Secara Bakteriologis. Program Studi D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi. Pembimbing: Dra. Nony Puspawati, M.Si

Nata de coco adalah jenis komponen minuman yang merupakan senyawa selulosa (*dietary fiber*) yang dihasilkan dari air kelapa melalui proses fermentasi, yang melibatkan jasad renik (mikroba) yang dikenal dengan *Acetobacter xylinum*.

Pengujian ini dilakukan di laboratorium Universitas Setia Budi Surakarta, pada bulan Januari 2018. Pengujian ini menggunakan 2 sampel *nata de coco* dengan produk berbeda dimana kode A dari Supermarket dan kode B dari pasar tradisional.

Pengujian *nata de coco* dilakukan berdasarkan batas syarat Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia tahun 2016. Pengujian meliputi uji Most Probable Number (MPN) dan Uji *Salmonella sp.* Berdasarkan hasil yang diperoleh pada sampel *nata de coco* A memenuhi syarat, sedangkan sampel *nata de coco* B tidak memenuhi syarat secara bakteriologis yang telah ditetapkan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Tahun 2016.

Kata kunci: *nata de coco*, MPN, uji *Salmonella sp.*

BAB I

PENDAHULUAN

2.1 Latar Belakang

Saat ini banyak masyarakat yang gemar mengonsumsi makanan pencuci mulut, dari buah-buahan segar hingga makanan fermentasi seperti salah satunya *nata de coco*. *Nata de coco* adalah jenis nata dengan medium fermentasi oleh bakteri *Acetobacter xylinum* dari air kelapa. Terlihat seperti jeli, berwarna putih hingga bening dan bertekstur kenyal. Pada umumnya masyarakat lebih senang membeli *nata de coco* karena kesegaran dan rasanya yang enak selain itu juga mudah ditemukan serta digambarkan sebagai sumber makanan rendah energi untuk keperluan diet karena nilai gizi produk ini sangat rendah, selain itu manfaat dari *nata de coco* juga dapat memperlancar pencernaan karena mengandung serat yang dibutuhkan oleh tubuh (Hidayat, 2006)

Pengolahan *nata de coco* harus dilakukan secara hygiene karena untuk mengurangi kontaminasi dari mikroba. Salah satu penyebab perubahan manfaat *nata de coco* menjadi sumber penyakit bagi tubuh meliputi proses pencucian alat, pembuatan nata hingga pengemasan yang kurang memperhatikan hingga menjadi bahan kontaminasi (Arfayanti, 2017)

Berbagai macam *nata de coco* banyak beredar di pasar tradisional maupun di swalayan. Kebanyakan masyarakat lebih memilih untuk membeli *nata de coco* curah di pasar karena harganya yang relatif murah. Padahal pada dasarnya tidak semua *nata de coco* yang dijual memenuhi syarat konsumsi sesuai dengan ketentuan yang ada.

Sebelum didistribusikan ke masyarakat, *nata de coco* harus diuji mutu bakteriologisnya untuk mengetahui keamanan dan kualitasnya. Akan tetapi masih ada produsen yang tidak melakukan uji bakteri tersebut sehingga diketahui layak atau tidaknya untuk dikonsumsi (Arfayanti, 2017)

2.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah diatas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

Apakah *nata de coco* ini memenuhi syarat secara bakteriologis berdasarkan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia tahun 2016?

2.3. Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui apakah *nata de coco* ini memenuhi syarat secara bakteriologis berdasarkan Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia tahun 2016.

2.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari hasil penelitian adalah sebagai berikut:

a. Untuk masyarakat

Memberikan informasi tentang kondisi kebersihan *nata de coco* di pasar tradisional dengan tujuan agar masyarakat lebih berhati-hati dalam memilih *nata de coco* yang akan di konsumsi.

b. Untuk penulis

Menambah pengetahuan dan dapat menambah keterampilan dalam melakukan pemeriksaan uji bakteriologis secara tepat.

c. Untuk institusi

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat dan menambah pengetahuan dan wawasan bagi mahasiswa Universitas Setia Budi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kelapa (*Cocos nucifera*)

Pohon kelapa termasuk dalam familia *Arecaceae* (*Palmae*). Klasifikasi pohon kelapa adalah sebagai berikut:

| | |
|-----------------------|--|
| Division | : Magnoliophyta |
| Subdivision | : Spermatophyta |
| Kelas | : Liliopsida |
| Ordo | : Arecales |
| Famili | : Palmae (<i>Arecaceae</i>) |
| Marga | : <i>Cocos</i> |
| Jenis (Nama Binomial) | : <i>Cocos nucifera. L</i> (Palungkun, 2004) |

Kelapa secara alami tumbuh di pantai dan pohonnya mencapai 30m. Tumbuhan ini dapat tumbuh hingga ketinggian 100m dari permukaan laut. Pohon kelapa memiliki batang tunggal atau kadang-kadang bercabang. Pohon kelapa memiliki akar serabut, tebal dan berkayu, berkerumun membentuk bonggol, adaptif pada lahan berpasir pantai (Efendi, 2009)

2.1.1. Kegunaan

Tumbuhan ini dimanfaatkan hampir semua bagiannya oleh manusia sehingga dianggap sebagai tumbuhan serba guna, kegunaannya antara lain:

- a. Batang kelapa dapat dibuat untuk jembatan dan bahan bangunan
- b. Daun kelapa untuk pembungkus makanan

- c. Lidi kelapa dapat dibuat sapu
- d. Sabut kelapa dapat dibuat tali
- e. Tempurung kelapa dapat dibuat anti nyamuk, kerajinan tangan dan arang aktif
- f. Air kelapa yang muda dapat diminum sementara kelapa tua diproses untuk menghasilkan santan, minyak kelapa, kecap, dll

(Efendi, 2009)

2.1.2. Air Kelapa

Air kelapa memiliki khasiat dan nilai gizi yang tinggi

Tabel 2. 1. Kandungan Komposisi Kimia Air Kelapa

| Sumber air (dalam 100 g) | Kelapa muda (%) | Air kelapa tua |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------|
| Kalori | 17,0 kal | - |
| Protein | 0,2 g | 0,14 |
| Lemak | 1,0 g | 1,50 |
| Karbohidrat | 3,8 g | 4,60 |
| Kalsium | 15,0 mg | - |
| Fosfor | 8,0 mg | 0,50 |
| Besi | 0,2 mg | - |
| Aktivitas vitamin A | 0,0 IU | - |
| Asam askorbat | 1,0 mg | - |
| Air | 95,5 g | 91,5 |
| Bagian air yang dapat diamakan | 100 g | - |

Sumber : Palungkun, 2004

Air kelapa dapat digunakan sebagai penyegar tenggorokan, dapat diolah menjadi *nata de coco*, kecap, sirup, dan lain-lain (Palungun, 2004).

Nutrisi yang terkandung dalam air kelapa terdiri dari gula, mineral, serta faktor pendukung pertumbuhan sebagai senyawa yang mampu meningkatkan pertumbuhan bakteri penghasil nata *Acetobacter xylinum*, kebutuhan akan substrat makro seperti sumber C dan N masih perlu ditambahkan agar nata dapat dihasilkan dengan optimal, sehingga kekurangan nutrisi yang diperlukan harus ditambahkan dalam proses fermentasi (Arfa, 2017).

2.2. Nata de Coco

Nata de coco adalah jenis komponen minuman yang merupakan senyawa selulosa (*dietary fiber*) yang dihasilkan dari air kelapa melalui proses fermentasi, yang melibatkan jasad renik (mikroba) yang dikenal dengan *Acetobacter xylinum*.

Nata de coco merupakan lapisan polisakarida ekstraseluler, menyerupai gel yang dibentuk oleh kumpulan sel bakteri *Acetobacter xylinum* dan terapung pada bagian permukaan media air kelapa. Lapisan ini mempunyai tekstur kenyal dan berwarna putih dan mengandung 35-62 % selulosa sehingga sangat baik digunakan sebagai makanan fungsional kaya serat (Arfa, 2017).

Nata dapat digambarkan sebagai sumber makanan rendah energy untuk keperluan diet karena nilai gizi produk ini sangat rendah. Selain itu nata juga mengandung serat yang sangat dibutuhkan oleh tubuh dalam proses fisiologis sehingga dapat memperlancar pencernaan (Hidayat, 2006)

2.3. *Acetobacter xylinum*

2.3.1. Klasifikasi

Acetobacter xylinum memiliki klasifikasi sebagai berikut :

Divisi : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Pseudomonadales

Famili : Pseudomonadaceae

Genus : *Acetobacter*

Spesies : *Acetobacter xylinum* (Nainggolan, 2009)

2.3.2. Morfologi dan Sifat *Acetobacter xylinum*

Acetobacter xylinum merupakan bakteri gram negatif dan berbentuk batang, bersifat non motil dan tidak membentuk endospore, bersifat obligat aerob, tumbuh baik pada pH 3,5-4,3 dan suhu 25-30°C, katalase positif artinya terdapat enzim yang mengubah H₂O₂ menjadi O₂ dan H₂O. Pada kultur yang masih muda, individu sel berada sendiri-sendiri dan transparan, koloni yang sudah tua membentuk lapisan menyerupai gelatin yang kokoh menutupi sel koloninya. Mikroaerofilik artinya dapat tumbuh baik bila ada sedikit oksigen atmosferik (Nainggolan, 2009)

Acetobacter xylinum yang merupakan bakteri penghasil nata, memerlukan sumber nutrisi karbon, Hidrogen dan Nitrogen serta mineral untuk pertumbuhannya. Air kelapa mengandung sebagian sumber nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri penghasil nata. Namun kebutuhan akan substrat makro seperti sumber C dan N masih perlu ditambahkan agar nata dapat dihasilkan dengan optimal, sehingga kekurangan nutrisi yang diperlukan harus ditambahkan dalam proses fermentasi. Sumber karbon dapat ditambahkan

sukrosa, glukosa, fruktosa, dan tepung, sedangkan sumber nitrogen dapat ditambahkan urea, ZA dan yeast ekstrak (Arfa, 2017).

2.4. Proses Pembuatan *Nata de Coco*

2.4.1. Penyiapan Bakteri Murni

- a. Agar (15-18gram) dimasukkan dalam 500 ml air kelapa dan dipanaskan sampai larut. Kemudian ditambah ekstrak ragi 15 gram, diaduk sampai larut (larutan a).
- b. Gula (75 gram) dan asam asetat 15ml dimasukkan dalam 50ml air kelapa segar yang lain, diaduk sampai larut (larutan b).
- c. Larutan a dan b masing-masing 3-4ml dimasukkan dalam tabung reaksi berbeda ditutup dengan kapas. Disterilkan pada suhu 121°C selama 20 menit.
- d. Ditunggu sampai tidak terlalu panas, larutan a dituang ke larutan b secara aseptis. Tabung diletakkan secara miring untuk membuat agar miring, ditunggu sampai agak mengeras.
- e. *Acetobacter xylinum* diinokulasikan pada agar miring kemudian inkubasi suhu 30°C sampai tampak adanya pertumbuhan bakteri berupa koloid mengkilat dan bening pada permukaan agar miring (Hidayat. dkk, 2006)

2.4.2. Pembuatan Starter

- a. Air kelapa diendapkan, disaring dengan kain kasa. Dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk. Ditambahkan asam asetat glasial (10-20 ml untuk 1liter air kelapa) dan gula (75-100 gram untuk 1 liter air kelapa). Aduk sampai larut. Disebut air kelapa asam bergula.

- b. Urea (3 gram urea untuk 1 liter air kelapa asam bergula) dilarutkan dalam sedikit air kelapa. (1 gram urea untuk 20 ml air kelapa). Dididihkan, dituangkan dalam air kelapa asam bergula.
- c. Ketika masih panas, media dipindah dalam beberapa botol bermulut lebar, masing-masing 200 ml ditutup dengan kapas steril. Setelah dingin, diinkubasi pada suhu kamar selama 6-8 hari (terbentuk lapisan putih pada permukaan media) (Hidayat. dkk, 2006).

2.4.3. Fermentasi Nata

- a. Air kelapa yang masih segar disaring dan dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk, ditambah asam asetat glasial (10 ml untuk 1 liter air kelapa) dan gula (75gram untuk 1 liter air kelapa) diaduk sampai rata. Disebut air kelapa asam bergula.
- b. Urea (5 gram urea untuk 1 liter air kelapa asam bergula) dilarutkan dalam sedikit air kelapa yang telah dimasak (1 gram urea untuk 20 ml air kelapa). Larutan dididihkan, kemudian dituang ke dalam air kelapa asam bergula. Larutan yang diperoleh disebut media nata. Didinginkan sampai suam-suam kuku.
- c. Media nata ditambah dengan starter (50-100 ml untuk 1 liter media nata) kemudian dipindah dalam wadah fermentasi dengan ketinggian 4cm. Ditutup dengan kertas yang telah dipanaskan dalam oven pada suhu 140°C selama 2jam. Kemudian disimpan di ruang fermentasi selama 12-15 hari sampai terbentuk lapisan nata yang cukup tebal (1,5 – 2,0 cm) (Hidayat. dkk, 2006).

2.4.4. Panen dan pencucian

Lapisan nata diangkat kemudian dicuci dengan air bersih. Nata kemudian direndam dalam air mengalir atau air yang diganti dengan air segar selama 3

hari. Nata dipotong dengan panjang $\pm 1,5 \times 1,5$ cm. Potongan nata direbus 5-10 menit, kemudian dicuci dan direbus lagi selama 10 menit. Hal ini diulangi sampai nata tidak berbau dan tidak berasa asam lagi (Hidayat. dkk, 2006).

2.5. Bakteri Pencemar *Nata de Coco*

2.5.1 *Escherichia coli*

a. Klasifikasi

| | |
|---------|--|
| Kingdom | : Bacteria |
| Filum | : Proteobacteria |
| Kelas | : Gammaproteobacteria |
| Ordo | : Enterobackteriales |
| Family | : Enterobacteriaceae |
| Genus | : <i>Escherichia</i> |
| Spesies | : <i>Escherichia coli</i> (Soedarto, 2015) |

b. Morfologi

Escherichia coli termasuk dalam famili Enterobacteriaceae. Bakteri ini merupakan bakteri Gram-negatif, berbentuk batang pendek (kokobasil), mempunyai flagel, berukuran $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$. *Escherichia coli* tumbuh dengan baik di hampir semua media perbenihan, dapat meragi laktosa, dan bersifat mikroaerofilik (Maksum, 2010)

Escherichia coli merupakan parasit dalam saluran pencernaan makanan manusia dan hewan berdarah panas. Pada manusia kadang kadang menyebabkan penyakit enteritis, peritonitis, sistitis. Menghasilkan asam dalam jumlah yang banyak dari glukosa tetapi acethyl methyl carbinol tidak dihasilkan. CO_2 dan H_2 kira kira dihasilkan dalam volume yang sama dalam glukosa. Pada

umumnya asam uric tidak dapat dipakai sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Ditemukan dalam faeces. Asam sitrat dan garam dari asam sitrat tidak dapat dipakai sebagai satu-satunya sumber karbon (Melliawati, 2009).

c. Patogenesis

Infeksi *Escherichia coli* seringkali berupa diare yang disertai darah, kejang perut, demam dan terkadang dapat menyebabkan gangguan pada ginjal. Infeksi *Escherichia coli* pada beberapa penderita, anak-anak dibawah 5 tahun, dan orang tua dapat menimbulkan komplikasi yang disebut sindrom uremik hemolitik (Irianto, 2013)

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

Berdasarkan sifat virulensi, *Escherichia coli* dikelompokkan menjadi *Escherichia coli* yang menyebabkan infeksi intestin dan ekstra intestin, antara lain:

Escherichia coli yang menyebabkan infeksi intestin

1. *Escherichia coli* enteropatogenik (EPEC)

Penyebab utama diare pada bayi. Infeksi EPEC mengakibatkan diare berair yang biasanya dapat sembuh sendiri, tetapi ada juga yang menjadi kronis. Lama diare yang disebabkan EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik.

2. *Escherichia coli* enterotoksigenik (ETEC)

ETEC merupakan bakteri penyebab diare pada anak dan wisatawan yang berpergian ke daerah dengan sanitasi buruk. ETEC dapat

melekat pada epitel usus halus sehingga menyebabkan diare tanpa demam.

3. *Escherichia coli* enteroinvasif (EIEC)

Gejala diare yang biasanya disertai dengan demam. EIEC masuk dan berkembang dalam epitel sel-sel kolon sehingga menyebabkan kerusakan pada sel kolon.

4. *Escherichia coli* enterohemoragik (EHEC)

EHEC dapat menyebabkan colitis berdarah (diare berar yang disertai perdarahan) dan sindrom uremik molitik (gagal ginjal akut yang disertai anemia hemolitik mikroangiopatik dan trombositopenia).

5. *Escherichia coli* enteroagregatif (EAEC)

Bakteri ini menyebabkan diare akut dan kronis dan merupakan penyebab utama diare pada masyarakat di negara berkembang. EAEC melekat pada sel manusia dengan pola khas yang menyebabkan diare tidak berdarah, tidak menginvasi, dan tidak menyebabkan inflamasi pada mukosa intestin.

Escherichia coli yang menyebabkan infeksi ekstraintestin

1. *Escherichia coli* uropatogenik (UPEC)

UPEC menyabkan infeksi saluran kandung kemih mulai dari sistisis sampai pielonefritis. Bakteri yang berkolonisasi berasal dari tinja atau daerah perineum saluran urine yang masuk kedalam kandung kemih. Kemungkinan wanita mengalami infeksi UPEC pada kandung kemih lebih besar daripada pria karena wanita mempunyai saluran uretra yang lebih pendek.

2. *Escherichia coli* meningitis neonates (NMEC)

NMEC dapat menyebabkan meningitis pada bayi baru lahir. Perjalanan infeksi biasanya terjadi setelah *Escherecia coli* masuk kedalam pembuluh darah melalui nasofaring atau saluran gastrointestinal dan kemudian masuk kedalam sel-sel otak (Radji, 2010).

2.5.2. Salmonella

a. Klasifikasi

| | |
|---------|--|
| Kingdom | : Bacteria |
| Filum | : Proteobacteria |
| Kelas | : Gammaproteobacteria |
| Ordo | : Enterobakteriales |
| Family | : Enterobakteriakceae |
| Genus | : Salmonella |
| Spesies | : <i>Salmonella sp.</i> (Soedarto, 2015) |

b. Morfologi

Salmonella sp. mempunyai ciri-ciri berbentuk batang, gram negative, fakultatif anaerob, bergerak dengan flagel peritrik (Enjang, 2013). *Salmonella sp.* mempunyai panjang yang bervariasi dan hampir tidak pernah fermentasi laktosa atau sukrosa. Bakteri ini membentuk asam dan terkadang membentuk gas dari glukosa dan manosa, umumnya menghasilkan H₂S (Jawets, 2008). *Salmonella sp.* merupakan bakteri yang umumnya motil dan termasuk bakteri mesofil. Terdapat lebih dari 2000 *serovar* dan semuanya diketahui pathogen pada manusia (Sopandi dan Wardah, 2014)

Struktur sel bakteri *Salmonella sp.* terdiri atas bagian inti (nucleus), sitoplasma dan dinding sel. Dinding sel bakteri ini bersifat gram negatif, sehingga mempunyai struktur kimia yang berbeda dengan bakteri gram positif. Struktur dinding sel bakteri gram negatif mengandung 3 polimer senyawa muko kompleks yang terletak di luar lapisan peptidoglikan (murein). Ketiga polimer ini terdiri dari :
(Kunarso, 1987)

1. Lipoprotein

Senyawa protein yang mempunyai fungsi menghubungkan antara selaput luar dengan lapisan peptidoglikan (murein).

2. Selaput luar

Selaput ganda yang mengandung senyawa fosfolipid dan sebagian besar dari senyawa fosfolipid ini terikat oleh molekul-molekul lipopolisakarida pada lapisan atasnya.

3. Lipopolisakarida

Senyawa yang mengandung lipid yang kompleks molekul-molekul lipopolisakarida ini berfungsi sebagai penyusun dinding sel bakteri gram negatif yang dapat mengeluarkan sejenis racun (toxin) yang disebut endotoksin. Endotoksin ini dikeluarkan apabila terjadi luka pada permukaan sel bakteri gram negatif tersebut.
(Kunarso, 1987)

Salmonella sp. mempunyai tiga jenis antigen utama, yaitu :

1. Antigen somatik atau antigen O

Antigen somatik atau antigen O adalah bagian dinding sel bakteri yang tahan terhadap pemanasan 100°C, alkohol, dan asam. Struktur antigen somatik mengandung lipopolisakarida. Beberapa

diantaranya mengandung jenis gula yang spesifik. Antibodi yang terbentuk terhadap antigen O adalah Ig M.

2. Antigen Flagel atau antigen H

Antigen ini mengandung beberapa unsur imunologik. Pada *Salmonella sp*, antigen H dapat dirusak oleh asam, alkohol, dan pemanasan diatas 60°C. Antibodi terhadap antigen H adalah Ig G.

3. Antigen Vi atau antigen kapsul

Antigen Vi atau antigen kapsul merupakan polimer polisakarida bersifat asam yang terdapat dibagian paling luar badan bakteri. Antigen Vi dapat dirusak oleh asam, fenol dan pemanasan diatas 60°C selama 1jam. (Radji, 2010)

c. Patogenesis

Infeksi *Salmonella sp* terjadi pada saluran cerna dan terkadang menyebar lewat peredaran darah ke seluruh organ tubuh. Infeksi *Salmonella sp* pada manusia bervariasi yaitu dapat berupa infeksi yang dapat sembuh sendiri (gastroenteris), tetapi dapat juga menjadi kasus yang serius apabila terjadi penyebaran sistemik (demam enterik) (Radji, 2010)

Virulensi *Salmonella sp* disebabkan oleh kemampuan menginvasi sel-sel epitel inang, mempunyai antigen permukaan yang terdiri dari lipopolisakarida, kemampuan melakukan replikasi interseluler, menghasilkan beberapa toksin spesifik, kemampuan berkolonisasi pada ileum dan kolon, kemampuan menginvasi epitel intestine dan berkembang didalam sel-sel limfoid (Radji, 2010).

Infeksi yang disebabkan *Salmonella sp*. yang masuk kedalam tubuh melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. Gejalanya berupa demam,

diare, kram perut, pusing sakit kepala, dan rasa mual setelah 12 sampai 72 jam terinfeksi. Gejalanya dapat berlangsung selama 7 hari (Waluyo, 2004)

Ada 3 faktor yang menentukan virulensi bakteri *Salmonella sp.*

1. Daya invasi

Dalam usus halus, bakteri *Salmonella sp.* yang berpenetrasi di epitel masuk kedalam jaringan sub-epitel sampai lamina propria. Mekanisme biokimia yang terjadi saat penetrasi belum diketahui dengan jelas, tetapi prosesnya menyerupai fagositosis. Setelah penetrasi, bakteri di fagosit oleh makrofag, berkembangbiak, dan dibawa oleh makrofag ke bagian tubuh lain.

2. Endotoksin

Kemampuan *Salmonella sp.* yang hidup intraseluler diduga karena memiliki antigen permukaan (antigen Vi). Sampai sel *Salmonella* mengandung kompleks lipopolisakarida yang berfungsi sebagai endotoksin dan merupakan faktor virulensi. Endotoksin dapat merangsang pelepasan zat pyrogen dari sel-sel makrofag dan sel polimorfonuklear sehingga mengakibatkan demam. Selain itu endotoksin dapat merangsang aktivasi sistem komplemen, pelepasan kinin, dan memengaruhi limfosit. Sirkulasi endotoksin dalam peredaran darah dapat menyebabkan renjat septik akibat infeksi.

3. Enterotoksin dan sitotoksin

Toksin lain yang dihasilkan oleh *Salmonella sp.* adalah enterotoksin dan sitotoksin. Kedua toksin ini diduga juga dapat meningkatkan daya invasi dan merupakan faktor virulensi *Salmonella sp.* (Radji, 2010)

2.6. Cara Pemeriksaan Bakteri Pencemar pada *Nata De Coco*

Pemeriksaan *nata de coco* secara bakteriologis ini menggunakan acuan Badan Pengawasan Obat Dan Makanan Republik Indonesia Nomor 16 Tahun 2016.

Tabel 2. 2 Persyaratan *Nata de coco* menurut BPOM nomor 16 tahun 2016

| Cemaran Mikroba | N | C | m | M |
|-------------------------|---|---|-------------|----|
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 0 | <3 APM/ g | NA |
| <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | negatif/ 25 | NA |

2.6.1. Metode MPN (Most Probable Number)

Metode MPN adalah suatu cara untuk menghitung jumlah *coliform*, *Escherichia coli*. MPN diartikan sebagai jumlah perkiraan terdekat. Metode MPN pada prinsipnya adalah melihat pertumbuhan bakteri *coliform* yang ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung durham didalam media yang sesuai. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, dan untuk mengetahui pertumbuhan *Escherichia coli* diinkubasi pada suhu 44°C selama 24-48 jam. Selanjutnya hasil dilihat pada table MPN.

a. Uji penduga

Untuk mengetahui adanya bakteri yang mampu memfermentasi laktosa, dilakukan inokulasi sampel pada media *Lactosa Broth* (LB) sebanyak 9 tabung. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Uji penegas

Untuk mengetahui adanya bakteri *coliform*. Uji penegas menggunakan media selektif yaitu media *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLB). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dihitung

sebagai angka *coliform*, pada suhu 44°C dihitung sebagai angka *Escherichia coli* (Irianto, 2013).

2.6.2. Identifikasi Bakteri *Salmonella sp*

Uji *Salmonella sp* untuk mengukur jumlah bakteri *Salmonella sp* pada bahan pangan yang terkontaminasi. Tahap isolasi dapat dilakukan pengayaan, penyubur, isolasi dan identifikasi bakteri

a. Tahap pengaya

Untuk memeriksa makanan dimana jumlah *Salmonella sp* sangat kecil dan pertumbuhannya tertekan oleh suasana lingkungan yang tidak menguntungkan. Bahan ditanam pada media *buffer pepton* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Tahap penyubur

Pada media selektif bertujuan untuk mengurangi atau membunuh bakteri selain *Salmonella sp* yang terdapat pada bahan pemeriksaan. Dilakukan dengan cara sampel yang telah mengalami tahap pengaya ditanam pada media cair selenit. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

c. Tahap isolasi

Ditanam pada media selektif yang memiliki selektifitas tinggi yaitu *Bismuth Sulfit Agar* (BSA).

d. Tahap identifikasi

Koloni yang dicurigai tumbuh pada media selektif berbentuk mata ikan dilakukan uji untuk melihat kemampuan *Salmonella sp.* bereaksi terhadap media tertentu. Media tersebut antara lain : KIA (*Klinger Iron*

Agar), LIA (*Lysine Iron Agar*), SIM (*Sulfida Indol Motilitas*), Citrat.
Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. (Irianto, 2013)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Data diambil dari pemeriksaan sampel dilaboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta yang dilakukan pada bulan Januari 2018.

3.2. Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam uji bakteriologis pada nata de coco antara lain : tabung reaksi, tabung durham, pipet ukur 10ml, pipet ukur 1ml, pipet ukur 0,1ml, rak tabung, autoclave, inkubator, cawan petri, jarum ose, lampu spirtus, kapas, Erlenmeyer, blender, timbangan elektrik.

3.2.2 Bahan

- a. Sampel *nata de coco* dari supermarket
- b. Sampel *nata de coco* dari pasar tradisional

3.3. Reagensia

Reagensia yang digunakan dalam uji bakteriologis pada nata de coco antara lain : *Lactose Broth* (LB), *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB), *Buffer Pepton*, *Sellenite*, *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Kliger's Iron Agar* (KIA), *Sulfida Indol Motility* (SIM), *Lysin Iron Agar* (LIA), *Citrat*, *Erlich A*, *Erlich B*

3.4. Persiapan Sampel

Nata de coco yang masih berbentuk gel dihancurkan terlebih dahulu menggunakan blender atau gunting steril dipotong kecil-kecil.

Bahan ditimbang sebanyak 10 gram dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi 90 ml aquades (pengenceran 10^{-1})

3.5. Prosedur Kerja

3.5.1. Most Probable Number (MPN)

a. Uji Penduga

1. Disiapkan 9 tabung reaksi yang berisi media *Lactosa Broth* dengan tabung durham terbalik.
2. Dipipet sampel pada tabung 1 sampai 3 masing-masing 10 ml, tabung 4 sampai 6 masing-masing 1 ml, tabung 7 sampai 9 masing-masing 0,1 ml.
3. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
4. Diamati semua tabung, uji positif jika ada kekeruhan dan terbentuk gelembung gas pada tabung durham.

b. Uji Konfirmasi

1. Hasil positif dipindahkan 2 sampai 3 ose kedalam tabung yang berisi media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) dengan tabung durham terbalik
2. Diinkubasi pada suhu 44°C selama 24 sampai 48 jam.
3. Hasil dilihat dengan menggunakan table MPN.

3.5.2. Uji *Salmonella sp*

a. Uji Pengayaan

1. *Nata de coco* yang sudah di blender ditimbang 25 gram.

2. Dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi 225 ml media *Buffer Pepton*.
3. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Uji Penyubur

1. Sampel pada media diaduk kemudian diambil 1 ml dimasukkan kedalam *Selenite Broth* sebanyak 9 ml.
2. Diinkubasi 37°C selama 24 jam.

c. Isolasi dan identifikasi

1. Diambil 1 ose dari suspense media *Selenite Broth* yang telah diinkubasi, dan diinokulasikan pada media *Salmonella Shigella Agar*.
2. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bila koloni pada *Salmonella Shigella Agar* belum tumbuh jelas dapat diinkubasi lagi selama 24 jam.
3. Diamati koloni *Salmonella sp* pada media *Salmonella Shigella Agar*. Koloni terlihat keabuan atau kehitaman kadang metalik, media disekitar koloni berwarna coklat dan semakin lama waktu inkubasi akan berubah menjadi hitam.
4. Dilakukan identifikasi dengan media uji biokimia. (SNI : 2008)

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil Pengujian

4.1.1. Hasil Uji MPN dari sampel A dan B

Tabel 4. 1. Hasil sampel A Uji MPN *Escherichia coli*

| Sampel A | Tahap Penduga (LB 37°C, 24 jam) | | | Tahap Penegas (BGLB 44°C, 24 jam) | | | MPN/g | Syarat |
|----------|---------------------------------|-----|-------|-----------------------------------|-----|-------|-------|-----------|
| | 10ml | 1ml | 0,1ml | 10ml | 1ml | 0,1ml | | |
| 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | <3 APM /g |
| 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |

Tabel 4. 2 Hasil sampel B Uji MPN *Escherichia coli*

| Sampel B | Tahap Penduga (LB 37°C, 24 jam) | | | Tahap Penegas (BGLB 44°C, 24 jam) | | | MPN/g | Syarat |
|----------|---------------------------------|-----|-------|-----------------------------------|-----|-------|-------|-----------|
| | 10ml | 1ml | 0,1ml | 10ml | 1ml | 0,1ml | | |
| 1 | 3 | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 150 | <3 APM /g |
| 2 | 3 | 3 | 0 | 3 | 2 | 0 | 93 | |
| 3 | 3 | 2 | 0 | 3 | 2 | 0 | 93 | |
| 4 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | >2400 | |
| 5 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 42 | |

4.1.2. Uji Isolasi dan Identifikasi *Salmonella sp.*

a. Hasil Pertumbuhan Bakteri *Salmonella sp.*

Tabel 4. 3 Hasil A uji *Salmonella sp*

| Sampel A | Hasil Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella sp</i> | | | | |
|-------------|--|----------|---------------------|---------|--------------|
| | Buffer Pepton | Selenite | SSA | Hasil | Syarat |
| 1 | Keruh | Jernih | Tidak Tumbuh Koloni | Negatif | Negatif/25 g |
| 2 | Keruh | Jernih | Tidak Tumbuh Koloni | Negatif | Negatif/25 g |
| 3 | Keruh | Jernih | Tidak Tumbuh Koloni | Negatif | Negatif/25 g |
| 4 | Keruh | Jernih | Tidak Tumbuh Koloni | Negatif | Negatif/25 g |
| 5 | Keruh | Jernih | Tidak Tumbuh Koloni | Negatif | Negatif/25 g |

Tabel 4. 4. Hasil B Uji *Salmonella sp.*

| Sampel B | Hasil Pertumbuhan Bakteri <i>Salmonella sp</i> | | | |
|-------------|--|----------|------------------------------|--------------|
| | Buffer Pepton | Selenite | SSA | Syarat |
| 1 | Keruh | Keruh | Tidak terbentuk koloni hitam | Negatif/25 g |
| 2 | Keruh | Keruh | Tidak terbentuk koloni hitam | Negatif/25 g |
| 3 | Keruh | Keruh | Tidak terbentuk koloni hitam | Negatif/25 g |
| 4 | Keruh | Keruh | Tidak terbentuk koloni hitam | Negatif/25 g |
| 5 | Keruh | Keruh | Tidak terbentuk koloni hitam | Negatif/25 g |

b. Hasil Uji Biokimia

Tabel 4. 5. Hasil uji biokimia

| Koloni B | Media | Hasil | Kesimpulan | |
|----------|--------|---------------------|------------|-----------------------------|
| 1 | KIA | A/AG S ⁻ | Negatif | Bukan <i>Salmonella sp.</i> |
| | SIM | - + - | | |
| | LIA | K/K S ⁻ | | |
| | Citrat | + | | |
| 2 | KIA | K/A S ⁻ | Negatif | Bukan <i>Salmonella sp.</i> |
| | SIM | - + - | | |
| | LIA | K/K S ⁻ | | |
| | Citrat | - | | |
| 3 | KIA | K/A S ⁻ | Negatif | Bukan <i>Salmonella sp.</i> |
| | SIM | - - - | | |
| | LIA | K/K S ⁻ | | |
| | Citrat | + | | |
| 4 | KIA | K/AG S ⁻ | Negatif | Bukan <i>Salmonella sp.</i> |
| | SIM | - - - | | |
| | LIA | K/K S ⁻ | | |
| | Citrat | + | | |
| 5 | KIA | A/AG S ⁻ | Negatif | Bukan <i>Salmonella sp.</i> |
| | SIM | - + + | | |
| | LIA | K/K S ⁻ | | |
| | Citrat | - | | |

4.2 Pembahasan

Pengujian *Nata de coco* ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah *nata de coco* tersebut memenuhi syarat badan pengawasan obat dan makanan atau tidak. Pengujian ini menggunakan 2 produk yang berbeda, dimana satu produk menguji sebanyak 5 sampel. Produk A menggunakan sampel *nata de coco* yang dijual di supermarket sedangkan produk B menggunakan sampel *nata de coco* yang dibeli di pasar tradisional.

Pada uji MPN (*Most Probable Number*) digunakan media *Lactose Borth* sebagai uji penduga dan selanjutnya diuji penegas dengan media BGLB (*Brilian Green Lactose Bile Broth*), kedua media ini mengandung laktosa. Uji penduga ini bertujuan untuk mengetahui bakteri yang memfermentasi laktosa dan untuk uji

penegas bertujuan untuk mengetahui bakteri *coliform* dan *Escherichia coli* yang memfermentasi laktosa yang selanjutnya hasil ditentukan melalui table MPN. Uji *Salmonella sp* ada 4 tahapan : pertama dengan media pengaya *Buffer Pepton*, media ini untuk memperbanyak *Salmonella sp* yang dalam makanan keberadaannya relatif sedikit. Kedua dengan media penyubur *Sellenite*, media ini untuk menyuburkan *Salmonella sp* dan menghambat pertumbuhan bakteri lain. Ketiga isolasi dengan media *Salmonella Shigella Agar*, pertumbuhan koloni yang dihasilkan oleh bakteri *Salmonella sp* berwarna hitam hal ini dikarenakan Fe melepas asam amino yang mengandung sulfur dan sulfur yang dilepaskan tersebut akan berikatan dengan air lalu air berikatan dengan H₂S dan berikatan dengan garam FeS sehingga mengendap dan membentuk warna hitam. Keempat identifikasi dengan uji biokimia, KIA : jika positif maka bakteri mampu memfermentasi karbohidrat dalam suasana asam, bagian dasar fermentasi glukosa dan bagian lereng fermentasi laktosa. SIM : H₂S positif bakteri dalam suasana asam menghasilkan sodium thiosulfat, indol positif bakteri mampu memecah asam amino triptofan olehh enzim triptofanase menjadi indol dan asam piruvat dan warna merah yang dihasilkan adalah reaksi dari reagen erlich yang mengandung kovac. LIA : jika positif bakteri mampu mendeaminase lysine. Citrat : jika positif bakteri mampu menggunakan citrate sebagai sumber karbon, menghasilkan ion OH⁻ yang bersifat basa dan adanya indicator BTB (*Bromo Thymol Blue*) (Harti, 2015)

Pada hasil pengujian MPN (Most Probable Number) uji penduga pada media *Lactose Broth* hasil sampel A dengan kode 1 didapatkan hasil positif pada tabung 10ml sebanyak 1 tabung dan pada tabung 1ml sebanyak 1 tabung, kode 2 didapatkan hasil positif pada tabung 10ml, kode 3 didapatkan hasil positif pada

tabung 10ml sebanyak 1 tabung dan pada tabung 1ml sebanyak 1 tabung, kode 4 didapatkan hasil positif pada tabung 10ml sebanyak 1 tabung dan pada tabung 1ml sebanyak 1 tabung, kode 5 didapatkan hasil positif pada tabung 10ml sebanyak 1 tabung. Untuk sampel B dengan kode 1 didapatkan hasil positif pada semua tabung 10ml, pada tabung 1ml sebanyak 2 tabung, pada tabung 0,1ml sebanyak 2 tabung. Kode 2 didapatkan hasil positif pada semua tabung 10ml dan tabung 1ml. Kode 3 didapatkan hasil positif pada semua tabung 10ml, pada tabung 1ml sebanyak 2 tabung. Kode 4 didapatkan hasil positif pada tabung 10ml, 1ml dan 0,1ml. Kode 5 didapatkan hasil positif pada semua tabung 10ml dan 0,1ml, pada tabung 1ml sebanyak 2 tabung. Kemudian tabung yang positif dipindahkan pada media BGLB sebanyak 1-2 ose dan diinkubasi pada suhu 44°C selama 24jam karena untuk melihat adanya pertumbuhan *E.coli*. Hasil BGLB pada sampel A dengan kode 1 yaitu 0-0-0 kode 2 yaitu 0-0-0, kode yaitu 3 0-0-0, kode 4 yaitu 0-0-0, kode yaitu 5 0-0-0. Pada hasil kode 3 dan 4 diperkirakan jumlah *Escherichia coli* jika dilihat pada table MPN yaitu 0. Sedangkan pada sampel B hasil yang didapatkan pada uji MPN dengan kode 1 yaitu 3-2-1, kode 2 yaitu 3-2-0, kode 3 yaitu 3-2-0, kode 4 yaitu 3-3-3, kode 5 yaitu 2-2-3. Dari hasil yang didapatkan jika dilihat pada table MPN untuk kode 1 sebanyak 150, kode 2 sebanyak 93, kode 3 sebanyak 93, kode 4 sebanyak >2400, kode 5 sebanyak 42. Dari hasil tersebut sampel A dapat dikatakan memenuhi syarat dan sampel B dapat dikatakan tidak memenuhi syarat MPN *Escherichia coli* pada *nata de coco* yang ditetapkan oleh Badan Pengawasan Obat dan Makanan tahun 2016 yaitu <3 AMP/g.

Uji isolasi dan identifikasi *Salmonella sp* melalui 4 tahapan. Pertama pengaya dengan media Buffer Pepton, sampel A dan B masing-masing sebanyak

10gram dimasukkan pada media Buffer Pepton 90ml dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24jam hasilnya pada sampel A dan B keruh. Kedua penyubur, sampel pada Buffer Pepton sebanyak 1ml dipindahkan pada media Sellenite 9ml dan diinkubasi 37°C selama 24 jam hasilnya pada sampel A jernih dan sampel B keruh. Ketiga isolasi, dilakukan pada media Salmonella Shigella Agar (SSA) dimana sampel dari media Sellenite digores pada media SSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam hasilnya pada sampel A tidak ada pertumbuhan koloni sama sekali, pada sampel B tidak terbentuk koloni yang berwarna hitam atau mata ikan tetapi terbentuk koloni yang berwarna merah dan juga kuning. Kelima identifikasi pada koloni yang terbentuk diuji biokimia yang digoreskan pada media KIA, SIM, LIA, Citrat lalu diinkubasi 37°C selama 24 jam. Pada uji biokimia ini hanya sampel B yang diidentifikasi karena sampel A tidak terbentuk koloni sama sekali. Hasil uji biokimia sampel B dengan semua kode dapat dinyatakan negatif karena dari ciri-ciri biokimia tidak menunjukkan hasil *Salmonella sp.*

Hasil pemeriksaan sampel nata de coco dari supermarket dengan kode A memenuhi syarat secara bakteriologis. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor seperti bahan baku yang digunakan dalam pembuatan *nata de coco* buatan pabrik berkualitas baik sehingga aman untuk dikonsumsi, selain itu pengerjaan di pabrik lebih steril karena menggunakan peralatan dalam pengolahan sampai dengan pengemasan sudah menggunakan alat yang modern sehingga terjamin akan kebersihannya karena tidak kontak langsung dengan tangan pengolahnya. *Nata de coco* bermerk buatan pabrik juga dikemas dengan sebaik mungkin jadi terhindar dari kontaminasi, meskipun angka bakteri ada

pada uji yang telah dilakukan tetapi masih dalam batas yang normal (Palungkun, 2004)

Hasil pemeriksaan sampel *nata de coco* dari pasar tradisional tanpa merk dengan kode B tidak memenuhi syarat secara bakteriologis. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pencemaran air yang digunakan kurang bersih dan juga bahan baku yang kualitasnya kurang baik. Lingkungan tempat pembuatan *nata de coco* serta tempat penjualan yang kurang bersih juga dapat menjadi sumber pencemaran mikroba pada *nata de coco* dapat berasal dari debu yang berterbangan ataupun udara sekitar pengolahan dan penjualan. Tempat produksi yang mungkin masih menggunakan alat sederhana juga memicu kontaminasi *nata de coco* karena kontak langsung dengan tangan pengolah yang kemungkinan kotor. Penggunaan peralatan dalam proses pembuatan dan juga penjualan yang mungkin tidak sering dibersihkan dapat menjadi sumber utama kontaminasi mikroorganisme yang akan mengkontaminasi *nata de coco* tersebut. Penyimpanan *nata de coco* yang kurang baik, tidak memperhatikan suhu yang digunakan akan mudah merusak kualitas *nata de coco* (Palungkun, 2004)

Nata de coco yang dikonsumsi dengan baik bisa digunakan untuk program diet jika sesuai dengan aturannya, karena mengandung serat yang tinggi sehingga bisa untuk melancarkan sistem pencernaan. Selain itu *nata de coco* juga untuk campuran es dan disukai oleh sebagian masyarakat karena tekstur yang kenyal dan juga rasanya enak (Budiarti, 2008)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Dari uji bakteriologis pada ke dua merk sampel *nata de coco*, sampel A yang berasal dari supermarket dan bermerk memenuhi syarat. Sedangkan sampel B yang berasal dari pasar tradisional dan tidak bermerk tidak memenuhi syarat.

5.2. Saran

1. Bagi konsumen harus lebih teliti dan cermat dalam memilih produk *nata de coco* yang berkualitas baik.
2. Penjual harus lebih meningkatkan sanitasi dan hygiene yang baik dalam cara pengolahan maupun penyimpanan.
3. Penjual harus memberikan tanggal kadaluarsa produk *nata de coco* pada kemasan sehingga konsumen lebih aman untuk mengkonsumsinya.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrew Walker dan Rory Mackinnon. 2013. *Microbiologi and Infection Diseases on the move*. Jakarta : PT indeks.
- Arfayanti, Nur dkk. 2017. *Pengaruh Penambahan Gula dan Nitrogen Pada produksi Nata de coco*. Vol. 4 (1) hal : 541-546.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM). 2016. *Standar BPOM tentang Kriteria Mikrobiologi*. Dalam Pangan Olahan. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Budiarti,.R.S,. 2008.*pengaruh Konsentrasi Starter Acetobacter xylinum Terhadap Ketebalan dan rendemen Selulosa Nata de Soya*. Vol 1 (1) hal 19-24. Universitas Jambi.
- Efendi, Riki. 2009. *Pengolahan Bahan Kelapa*. Surabaya : Trubus Agrisarana.
- Entjang, Indah. 2003. *Mikrobiologi & Parasitologi*. Bandung: PT Citra Aditya.
- Harti, Sri A. 2015. *Mikrobiologi Kesehatan*. Yogyakarta : CV.ANDI OFFSET.
- Hidayat, N., Masdiana C. Padaga, dan Sri Suharti. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: ANDI.
- Irianto, Koes. 2006. *Mikrobiologi Menguak Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Bandung : Yrama Widya.
- Irianto, Koes. 2013. *Mikrobiologi Medis (Medical Microbiology)*. Bandung: Alfabeta.
- Irianto, Koes. 2014. *Bakteriologi, Mikologi & Virologi: Panduan medis & klinis*. Bandung: Alfabeta.
- Jawets, Melnick. dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC.
- Kunarso, D.H,. 1987. *Beberapa Catatan Tentang Bakteri Salmonella*. Vol XII (4) hal 79-90.
- Palungkun, R. 2004. *Aneka Produk Olahan Kelapa*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Radji, Maksum. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Jakarta: EGC.
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : CV Agung Seto.
- Sopandi, T. dan Wardah. 2014. *Mikrobiologi Pangan Teori dan Praktik*. Bandung : Alfabeta.

Supardi, dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung : Penerbit alumni.

Standar Nasional Indonesia. 2008. *Cara Uji Cemarkan Mikroba*. Jakarta : Dewan Standarisasi Nasional.

Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Malang : Universitas Muhammadiyah Malang

Lampiran 1. Gambar sampel



Sampel A

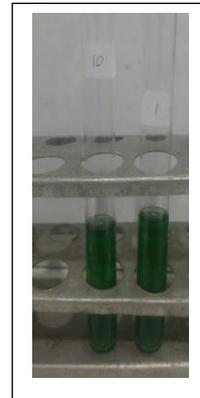


Sampel B

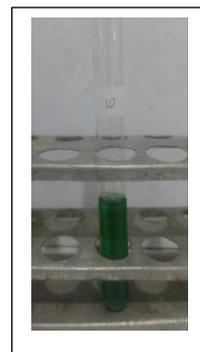
Lampiran 2. Hasil pengujian MPN
Hasil uji Sampel A



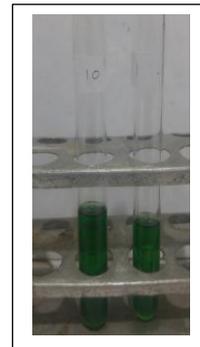
Sampel A1

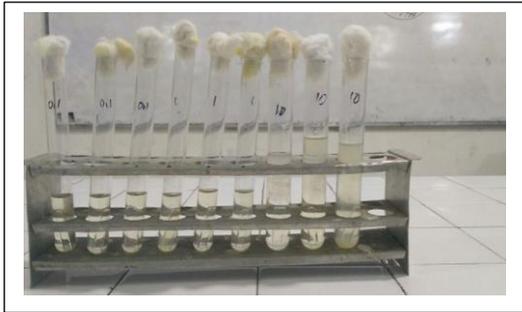


Sampel A2

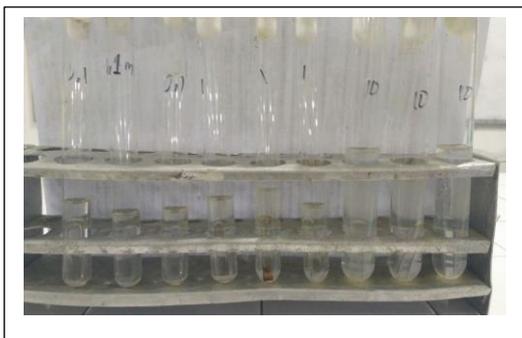
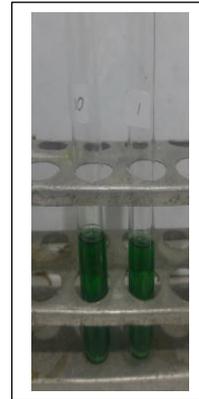


Sampel A3

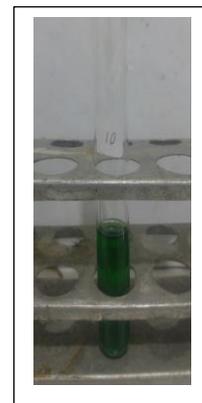




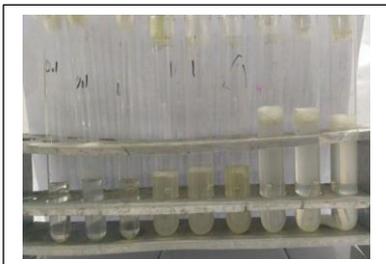
Sampel A4



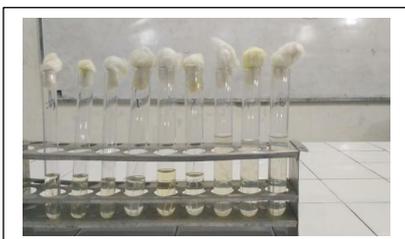
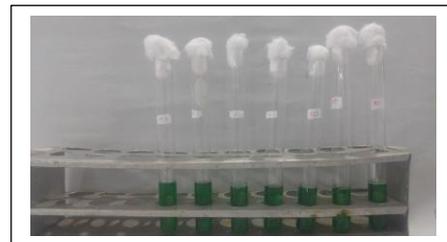
Sampel A5



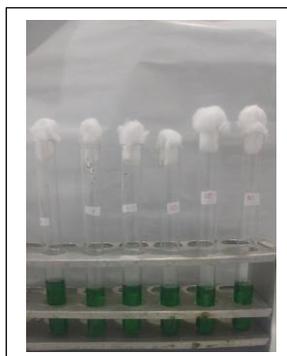
Hail uji Sampel B



Sampel B1

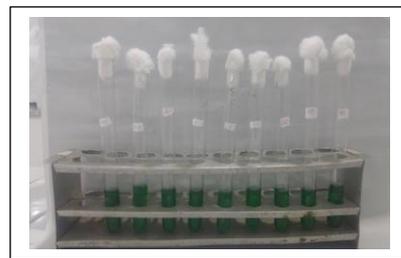
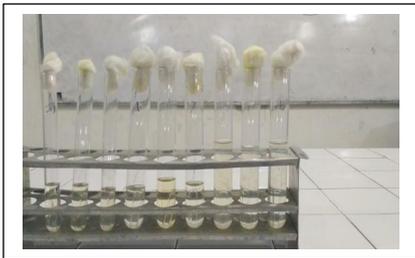


Sampel B2

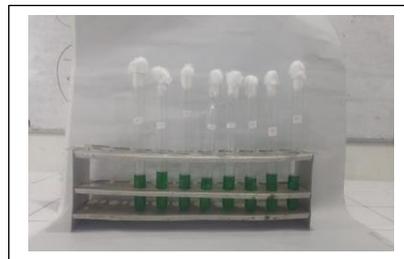
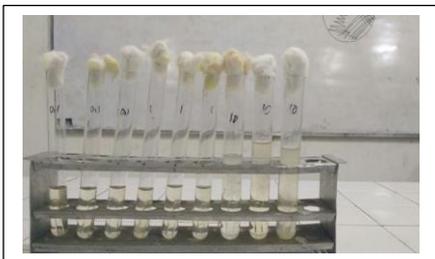




Sampel B3

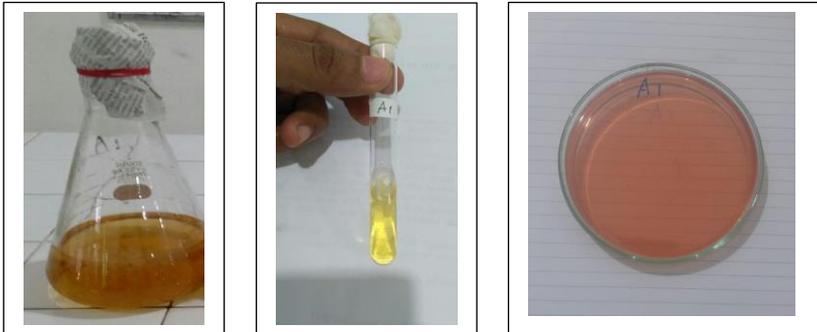


Sampel B4

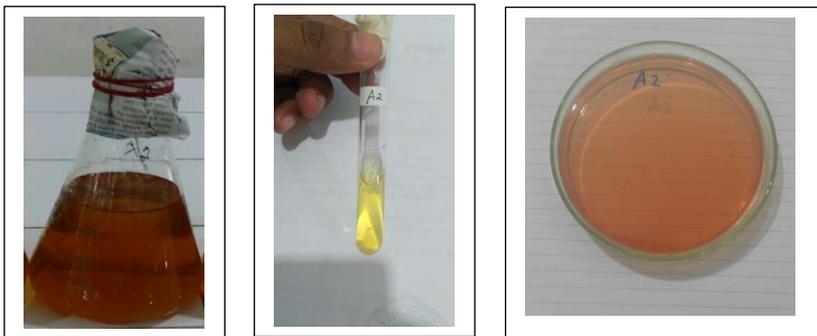


Sampel B5

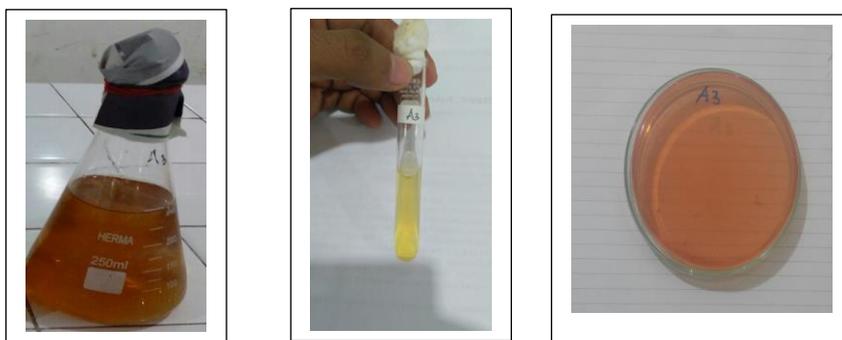
Lampiran 3. Hasil uji salmonella
Hasil uji Sampel A



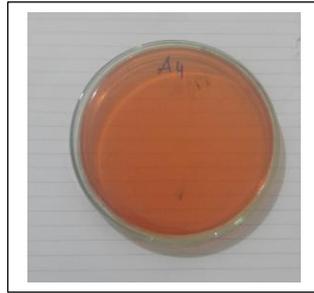
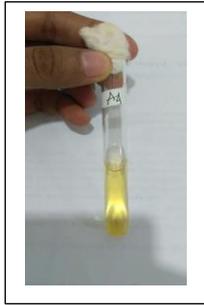
Sampel A1



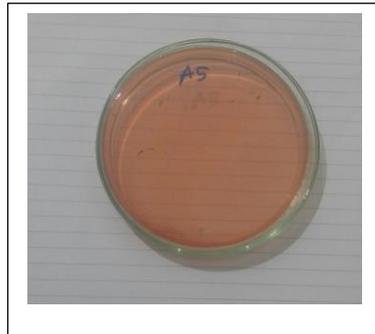
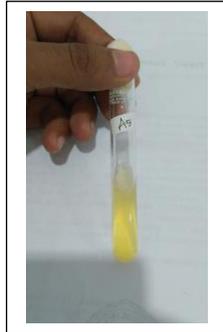
Sampel A2



Sampel A3



Sampel A4

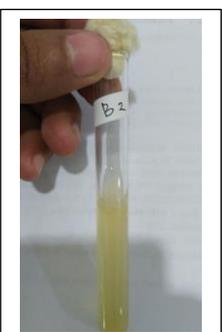


Sampel A5

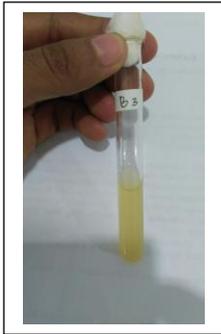
Hasil uji Sampel B



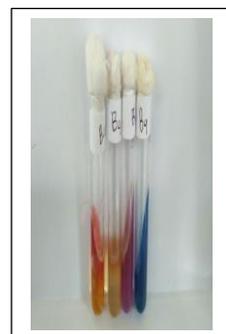
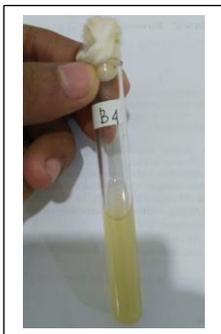
B1



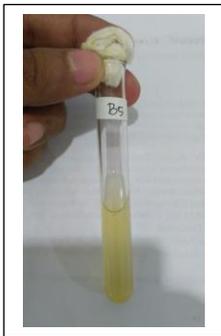
Sampel B2



Sampel B3



Sampel B4



Sampel B5

Lampiran 4. Tabel MPN per 100 ml sampel (3 tabung tiap seri pengenceran)

| Jumlah tabung positif tiap pengenceran | | | MPN per 100 ml | Jumlah tabung positif tiap pengenceran | | | MPN per 100 ml |
|--|------|--------|----------------|--|------|--------|----------------|
| 10 ml | 1 ml | 0,1 ml | | 10 ml | 1 ml | 0,1 ml | |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 9.1 |
| 0 | 1 | 0 | 3 | 2 | 0 | 1 | 14 |
| 0 | 0 | 2 | 6 | 2 | 0 | 2 | 20 |
| 0 | 0 | 3 | 9 | 2 | 0 | 3 | 26 |
| 0 | 1 | 0 | 3,1 | 2 | 1 | 0 | 15 |
| 0 | 1 | 1 | 6,1 | 2 | 1 | 1 | 20 |
| 0 | 1 | 2 | 9,3 | 2 | 1 | 2 | 27 |
| 0 | 1 | 3 | 12 | 2 | 1 | 3 | 34 |
| 0 | 2 | 0 | 6,2 | 2 | 2 | 0 | 21 |
| 0 | 2 | 1 | 9,3 | 2 | 2 | 1 | 28 |
| 0 | 2 | 2 | 12 | 2 | 2 | 2 | 35 |
| 0 | 2 | 3 | 16 | 2 | 2 | 3 | 42 |
| 0 | 3 | 0 | 9,4 | 2 | 3 | 0 | 29 |
| 0 | 3 | 1 | 13 | 2 | 3 | 1 | 36 |
| 0 | 3 | 2 | 16 | 2 | 3 | 2 | 44 |
| 0 | 3 | 3 | 19 | 2 | 3 | 3 | 53 |
| 1 | 0 | 0 | 3,6 | 3 | 0 | 0 | 23 |
| 1 | 0 | 1 | 7,2 | 3 | 0 | 1 | 39 |
| 1 | 0 | 2 | 11 | 3 | 0 | 2 | 64 |
| 1 | 0 | 3 | 15 | 3 | 0 | 3 | 95 |
| 1 | 1 | 0 | 7,3 | 3 | 1 | 0 | 43 |
| 1 | 1 | 1 | 11 | 3 | 1 | 1 | 75 |
| 1 | 1 | 2 | 15 | 3 | 1 | 2 | 120 |
| 1 | 1 | 3 | 19 | 3 | 1 | 3 | 160 |
| 1 | 2 | 0 | 11 | 3 | 2 | 0 | 93 |
| 1 | 2 | 1 | 15 | 3 | 2 | 1 | 150 |
| 1 | 2 | 2 | 20 | 3 | 2 | 2 | 210 |
| 1 | 2 | 3 | 24 | 3 | 2 | 3 | 290 |
| 1 | 3 | 0 | 16 | 3 | 3 | 0 | 240 |
| 1 | 3 | 1 | 20 | 3 | 3 | 1 | 460 |
| 1 | 3 | 2 | 24 | 3 | 3 | 2 | 1100 |
| 1 | 3 | 3 | 29 | 3 | 3 | 3 | >2400 |

Lampiran 5. Komposisi Media

1. Lactose Broth

- Pepton from gelatin..... 5,0 gram
- Lactose..... 5,0 gram
- Meat extract..... 3,0 gram

2. Brilliant Green Lactose Bile Broth

- Pepton from meat..... 30,0 gram
 - Lactose..... 10,0 gram
 - Oxgall Bile..... 20,0 gram
 - Brilliant Green..... 0,0133 gram
- pH $6,9 \pm 0,1$ pada 25°C

3. Buffer Pepton

- Pepton from meat..... 30,0 gram
 - Sodium Chloride..... 5,0 gram
 - Di-pottasium hydrogen fosfat..... 9 gram
 - Potassium dihydrogen fosfat..... 1,5 gram
- pH akhir $7,2 \pm 0,2$

4. Selenite

- Pepton from meat..... 5,0 gram
 - Lactosa..... 4,0 gram
 - Sodium selenite..... 4,0 gram
 - Di-pottasium hydrogen fosfat..... 3,5 gram
 - Potassium dihydrogen fosfat..... 6,5 gram
- pH $7,1 \pm 0,2$ pada 25°C

5. Salmonella Shigella Agar (SSA)

- Meat extract..... 5,0 gram
- Pepton from meat..... 5,0 gram
- Laktosa..... 10,0 gram
- Ox-bile..... 8,5 gram
- Sodium citrate..... 10,0 gram
- Sodium thiosulfate..... 8,5 gram
- Iron (III) citrate..... 1,0 gram
- Brillian green..... 0,0003 gram
- Neutral red..... 0,025 gram
- Agar-agar..... 12,0 gram

6. Kliger Iron Agar

- Pepton from casein..... 15,0 gram
- Pepton from meat..... 5,0 gram
- Meat extract..... 3,0 gram
- Yeast extract..... 3,0 gram
- Sodium chloride..... 5,0 gram
- Lactose..... 10,0 gram
- Glukosa..... 1,0 gram
- Ammonium iron (III) citrate..... 0,5 gram
- Sodium thiosulfate..... 0,5 gram
- Phenol red..... 0,024 gram
- Agar-agar..... 12,0 gram
- Aquadest..... 1,0 liter

7. Sulfide Indol Motility (SIM)

- Peptone from casein..... 20,0 gram
- Pepton from meat..... 6,6 gram
- Ammonium iron (II) citrate..... 0,2 gram
- Sodium thiosulfate..... 0,2 gram
- Agar-agar..... 3,0 gram
- Aquadest..... 1,0 liter

8. Lisyne Iron Agar (LIA)

- Pepton from meat..... 5,0 gram
- Yeast extract..... 3,0 gram
- Glukosa..... 1,0 gram
- Lysine monohydrochloride..... 10,0 gram
- Sodium thiosulfate..... 0,04 gram
- Ammonium iron (III) citrat..... 0,5 gram
- Bromo cresol purole..... 0,02 gram
- Agar-agar..... 12,5 gram
- Aquadest..... 1, 0 liter

9. Citrate

- Ammonium hydrogen fosfat..... 1,0 gram
- Di-potassium hydrogen fosfat..... 1,0 gram
- Sodium chloride..... 5,0 gram
- Magnesium sulfat..... 0,2 gram
- Bromo thymol blue..... 0,08 gram
- Agar-agar..... 12,5 gram
- Aquadest..... 1,0 liter