

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Pangan

1. Pengertian Pangan

Menurut Kurnia (2019), pangan merupakan kebutuhan pokok manusia yang berguna untuk menunjang kelangsungan hidupnya. Pangan adalah kebutuhan dasar yang pemenuhannya menjadi hak asasi setiap rakyat Indonesia dalam mewujudkan sumber daya manusia yang berkualitas untuk melaksanakan pembangunan nasional. Definisi pangan yang tertulis dalam Peraturan Pemerintah RI nomor 86 tahun 2019 adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan atau pembuatan makanan atau minuman (PP RI No. 86, 2019).

2. Keamanan Pangan

Keamanan Pangan adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan Kesehatan manusia serta tidak bertentangan dengan agama, keyakinan, dan budaya masyarakat sehingga aman dikonsumsi (PP RI No. 86, 2019). Dari definisi tersebut bahwa keamanan pangan harus diupayakan atau diusahakan semaksimal mungkin agar tercipta kondisi dan jaminan keamanan pangan yang dikonsumsi. Pangan memenuhi standar keamanan pangan untuk melindungi pangan dari potensi bahaya, baik biologis, kimia, fisik, atau benda lain yang dapat menimbulkan risiko terhadap kesehatan manusia. Keamanan pangan tidak terlepas dari higiene pangan, yaitu upaya mencegah pertumbuhan dan penyebaran mikroba patogen pada pangan, peralatan, dan bangunan yang dapat menimbulkan ancaman terhadap kesehatan (Yulianti *et al.*, 2022).

3. Es Batu

Es batu merupakan produk pangan yang dibuat dari air dengan cara dibekukan. Es batu biasanya dipakai untuk dicampurkan pada minuman sebagai bahan pelengkap sehingga minuman tersebut terasa lebih segar (Sukawaty *et al.*, 2016). Bahan baku pembuatan es batu adalah air bersih yang melewati proses pemasakan terlebih dahulu, sehingga higienis dan memenuhi standar sanitasi (Hadi *et al.*, 2014). Es batu dapat

memperpanjang umur simpan suatu produk pangan karena berkaitan dengan rendahnya suhu es batu sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Es batu yang dijual oleh pabrik es batu biasanya berupa es balok atau es kristal. Keamanan es balok masih diragukan dari adanya kontaminasi bakteri yang berasal dari sumber air yang tidak terjamin. Es batu yang sering digunakan untuk usaha rumah makan, restoran, cafe adalah es kristal karena pembuatan es ini menggunakan air yang sudah melalui proses filtrasi (Adi, 2014).

Es kristal adalah es batu yang diproduksi menggunakan mesin hingga menghasilkan bentuk seperti kristal. Proses pembuatan es kristal dilakukan menggunakan mesin es kristal, mesin penyimpanan es, dan mesin penyaring air. Langkah pertama pembuatan es kristal adalah dengan memompa air dari sumbernya, kemudian air tersebut ditampung dalam wadah penampungan, lalu disaring dengan penyaring air. Air yang berbentuk es kristal dimasukkan ke dalam kantong plastik (Safrida & Thaharah, 2020)

4. Cemarkan Mikroba pada Es Batu

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Sinaga (2017) di Kota Medan, menunjukkan adanya cemarkan bakteri koliform berupa *Escherichia coli* pada 6 sampel es kristal (S2, S3, S4, S5, S7, S8) dari 8 sampel es kristal dengan uji IMVIC yang diambil dari pedagang di Jalan Kapten Muslim Kota Medan. Sampel-1 es kristal tersebut memiliki nilai APM 6,7/100, sampel S-2, S-3, S-4, S-5 memiliki nilai APM 240/100 mL, sampel S-6 memiliki nilai APM 38/100 mL, serta Sampel S-7 dan S-8 memiliki nilai APM 240/100 mL. Kualitas es kristal yang di jual oleh pedagang di Jalan kapten Muslim, Medan tidak layak untuk dikonsumsi.

Penelitian bakteri koliform pada es kristal dilakukan oleh Sari (2015) dari 5 sampel yang di uji dengan no sampel S1 sampai S5 didapatkan nilai koliform dan kolifekal, yaitu pada sampel S1 nilai koliform 240/100 ml dan kolifekal 21/100 ml. Sampel S2 nilai koliform 240/100 ml dan kolifekal 21/100ml. Sampel S3 nilai koliform 38/100 ml dan kolifekal 21/100 ml. Sampel S4 nilai koliform 38/100 ml dan kolifekal 15/100 ml. Sampel S5 nilai koliform 38/100 ml dan kolifekal 38/100.

Penelitian bakteri koliform juga dilakukan oleh Azhari *et al.* (2022) dengan sampel es batu dari berbagai agen es batu di Gang Lebar, Wonocolo, Surabaya. Hasil uji penegasan penelitian tersebut dari 5 sampel didapatkan 1 sampel yang memenuhi kriteria berdasarkan SNI

3839:2019 yaitu sampel es kristal-1 dengan nilai 7 APM/100 mL, sedangkan pada 4 sampel lainnya (sampel es balok, es kristal-2, es rumahan-1, dan es rumahan-2) tidak memenuhi kriteria. Sampel es balok memiliki nilai 76 APM/100 mL, sampel es kristal-2 memiliki nilai 15 APM/100 mL, sampel es rumahan baik sampel 1 dan 2 yaitu 11 APM/100 mL. Identifikasi bakteri koliform dengan uji pelengkap menggunakan media EMBA (*Eosyn Methilene Blue Agar*) didapatkan hasil pada sampel es batu yang positif *Escherichia coli* adalah sampel es balok dan es kristal-2. Sampel es kristal-2 selain terdapat bakteri *E. coli* juga terdapat bakteri *Enterobacter sp* begitu pula dengan sampel es rumahan-1. Sampel es kristal-1 dan es kristal-2 terdapat bakteri *Proteus sp*, namun pada sampel es kristal-1 juga terdapat bakteri *Enterobacter sp*. Uji cemaran *Salmonella* dilakukan dengan media SSA yang didapatkan hasil satu sampel yang positif *Salmonella*, yaitu sampel es balok sedangkan keempat sampel yang lain terdapat cemaran bakteri bakteri *Proteus sp* pada sampel es kristal-1 dan bakteri *Klebsiella sp* pada sampel es kristal-2, es rumahan-1, dan es rumahan-2.

Analisis keberadaan bakteri koliform dan *Escherichia coli* dari 8 sampel es batu yang ada di jajanan minuman di Pasar Tengah Bandar Lampung dilakukan oleh Efrida dan Oktira (2021) didapatkan nilai APM koliform hasil uji penegasan, sampel A dan sampel D yaitu 1600 APM/100 mL, sampel B sebanyak 79 APM/100 mL, sampel C yaitu 110 APM/100 mL, sampel E dan sampel H sebanyak 170 APM/100 mL, sampel F sebanyak 33 APM/100 mL, serta sampel G dengan nilai 23 APM/100 mL. Cemaran bakteri *E.coli* dideteksi dengan media EMB agar, koloni warna hijau metalik dengan kilap logam terlihat sangat jelas dan memenuhi media terdapat pada 3 sampel yaitu sampel C, G dan H.

Penelitian identifikasi bakteri koliform yang dilakukan oleh Sumarni *et al.* (2016) pada es batu dan es kristal yang digunakan penjual es buah dan warung di sekitar kampus Universitas Riau sampel, dengan mengisolasi bakteri koliform dari es batu dan es kristal dengan teknik Spread Plate (metode agar sebar) pada media padat Nutrient Agar (NA) dan dilanjutkan dengan uji biokimia TSIA, SCA, SIM, H₂S, dan Gas, ditemukan lima genus diantaranya genus *Bacillus sp*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter* dan *Micrococcus* sedangkan pada es kristal ditemukan empat genus, yaitu *Bacillus sp*, *Enterobacter*, *Citrobacter* dan *Micrococcus*.

B. Bakteri Koliform

1. Pengertian Bakteri Koliform

Bakteri koliform termasuk dalam golongan bakteri intestinal, karena bakteri tersebut hidup dalam saluran pencernaan manusia, dan merupakan suatu kelompok mikroorganisme yang sering digunakan sebagai indikator pencemaran terhadap air. Bakteri koliform diketahui sebagai golongan bakteri batang Gram negatif, yang berperan dalam pemecahan laktosa. Bakteri ini sering digunakan sebagai salah satu indikator patogen pada hewan maupun manusia, dikarenakan jumlah koloninya memiliki hubungan positif dengan keberadaan bakteri patogen (Lestari *et al.*, 2023).

Bakteri koliform merupakan salah satu jenis mikroorganisme indikator. Kelompok bakteri koliform terdiri atas semua jenis bakteri aerobik dan anaerobik fakultatif yang berbentuk batang, tidak berspora, Gram negatif, dan mampu memfermentasikan laktosa dengan memproduksi gas dengan waktu inkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C. Bakteri yang termasuk dalam kelompok bakteri koliform antara lain *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, dan *Klebsiella pneumoniae* (Trihadiningrum, 2021). Lestari *et al.* (2023) menyatakan bahwa, asam amino yang dioksidasi oleh bakteri ini pada keadaan aerob, sedangkan fermentasi terbentuk dari perubahan metabolisme karena tidak adanya oksigen. Dengan menguraikan laktosa menjadi asam dan gas organik menghasilkan energi dengan waktu minimum 24 jam dan maksimum 48 jam pada suhu 35°C. Dijumpainya bakteri koliform di dalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan terdapat mikroorganisme yang bersifat enteropatogenik dan toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan.

2. Klasifikasi Bakteri Koliform

Kelompok koliform terdiri dari empat genera: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Citrobacter*. Adanya bakteri koliform pada bahan pangan menunjukkan tingkat higiene penanganan produk. Sebab, keberadaan bakteri koliform dimaknai sebagai kontaminasi feses. Bakteri koliform umum digunakan secara internasional sebagai standar ukuran higienitas bahan pangan, baik pada pangan segar maupun olahan ikan, ternak, atau produk pertanian (Manan, 2019).

Bakteri koliform dapat digolongkan menjadi dua kelompok yaitu koliform fekal, misalnya *Escherichia coli* dan koliform non fekal (misalnya *Enterobacter aerogenes*). Fekal koliform adalah bakteri yang

terdapat pada kotoran manusia dan hewan berdarah panas lainnya sedangkan koliform non- fekal adalah koliform yang berasal dari hewan dan tumbuhan yang mati (Manan, 2019).

3. Pengecatan Gram

Pengecatan Gram termasuk pengecatan diferensial, disebut demikian karena digunakan untuk membedakan dua kelompok besar yaitu mikrobia Gram negatif dan mikrobia Gram positif. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang mengikat kuat cat utama dan tidak dapat luntur oleh bahan peluntur, hasil pengecatan akan menunjukkan warna ungu. Bakteri Gram negatif akan kehilangan warna setelah tahap dekolorisasi dan setelah pemberian cat safranin sebagai penutup, akan memberikan warna merah muda. Bakteri Gram positif yang tidak diberi mordant Iodin setelah pengecatan utama, maka tahap dekolorisasi cat utama akan luntur dan nampak sebagai bakteri Gram negatif (Lestari *et al.*, 2018).

4. Uji Biokimia

Uji biokimia adalah pengujian larutan atau zat-zat kimia dari bahan-bahan dan

sejumlah proses yang terjadi dalam tubuh makhluk hidup, sebagai upaya untuk memahami proses kehidupan dari sisi kimia (Lehninger, 1995). Biokimia bertujuan untuk memahami cara interaksi biomolekul satu dengan lainnya yang membawa sifat-sifat kehidupan. Uji fisiologi identik dengan uji biokimia. Uji biokimia yang digunakan dalam identifikasi bakteri atau mikroorganisme. Pengujian tersebut antara lain uji katalase, koagulase, dan lain-lain. Pengujian biokimia merupakan salah satu hal yang sangat penting dalam dunia mikrobiologi (Lim, 1998).

Uji biokimia menggunakan media KIA, LIA, SIM, dan Sitrat. Media KIA berwarna kuning artinya bakteri mempunyai kemampuan memfermentasi dextrose dan/laktosa (Wibowo, 1988). Uji pada media LIA memiliki tujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendeaminasi atau mendekarboksilasi lisin dan pembentukan sulfida. Bakteri yang mengalami dekarboksilasi lisin menyebabkan reaksi basa (warna ungu) diseluruh media. SIM untuk pengujian indol dan pertumbuhan bakteri mempunyai kemampuan motiliti (Prisnanda & Wulandari, 2022). Pada uji Sitrat warna biru menunjukkan hasil positif, warna hijau menunjukkan hasil negatif (Sari *et al.*, 2019).

C. Angka Paling Mungkin (APM)

1. Pengertian APM

APM adalah suatu metode perhitungan mikroorganisme berdasarkan data yang dilihat dari hasil pertumbuhan mikroorganisme yang ditumbuhkan dalam medium cair spesifik pada seri tabung yang berasal dari sampel padat atau cair sehingga dihasilkan berkisar jumlah mikroorganisme dalam jumlah perkiraan terdekat dengan merujuk pada tabel APM. Prinsip utama pada metode APM adalah sampel diencerkan sampai kadar tertentu, sehingga didapat hasil konsentrasi mikroba sesuai ketentuan. Ketika dikultur dalam tabung, keberadaan bakteri menghasilkan frekuensi pertumbuhan tabung yang positif. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya gas pada tabung Durham. Keuntungan metode APM adalah keakuratan konsentrasi dapat ditingkatkan dengan menambah jumlah tabung yang digunakan untuk setiap pengenceran (Sri, 2015).

Metode pengujian APM digunakan pada media cair di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang menunjukkan hasil

positif, yaitu tabung yang ditumbuhi oleh mikroba setelah diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Observasi tabung yang positif dapat dilihat dengan cara mengamati adanya kekeruhan atau terbentuknya gas yang dihasilkan pada tabung Durham yang diletakkan pada posisi terbalik oleh mikroba pembentuk gas. Metode ini terdiri dari tiga tahap pengujian yaitu uji praduga, uji penegasan, dan uji pelengkap (Sri, 2015).

Pengenceran harus dilakukan lebih tinggi daripada pengenceran dalam hitungan cawan dalam metode APM, sehingga beberapa tabung yang berisi medium cair yang diinokulasikan dengan larutan hasil pengenceran tersebut mengandung satu sel jasad renik, beberapa tabung mungkin mengandung lebih dari satu sel, sedangkan tabung yang lain tidak mengandung sel. Dengan demikian, setelah inkubasi diharapkan terjadi pertumbuhan pada beberapa tabung, yang dinyatakan sebagai tabung positif sedangkan tabung lainnya negatif (Fardiaz, 1989).

2. Pengujian APM

2.1 Uji Praduga (*Presumptive Test*)

Uji praduga menggunakan medium *Lactose Broth* (LB) yang menjadi pengujian pertama. Medium LB digunakan sebagai medium untuk mendeteksi kehadiran koliform dalam air, makanan, dan produk susu, sebagai kaldu pemer kaya (*pre-enrichment broth*) *Salmonella*, dan

mempelajari fermentasi oleh bakteri pada umumnya (Wardani, 2021). Pada media LB bagian atas tabung durham terbalik terdapat rongga kosong yaitu gas, yang artinya bahwa sampel pada media LB menunjukkan positif dan adanya fermentasi laktosa oleh bakteri. Adanya zat asam pada sampel yang diuji dapat dilihat dari tingkat kekeruhannya dan gas yang dihasilkan pada sampel uji tampak pada tabung durham yang menimbulkan gelembung udara. Tabung dianggap positif apabila pembentukan gas minimal 10% atau lebih dari volume. Metode APM digunakan untuk mengetahui jumlah mikroorganisme yang ada dalam sampel cairan. Apabila inkubasi dilakukan 1 x 24 jam menunjukkan hasil negatif, dilanjutkan ke inkubasi selama 2 x 24 jam dengan suhu 35°C. Jika masa inkubasinya 2 sampai 24 jam dan tidak tampaknya gas pada tabung, maka dapat dikatakan hasilnya negatif. Selanjutnya, keseluruhan tabung dengan perolehan hasil positif dari pengujian yang telah dilakukan dihitung per seri tes (Lestari *et al.*, 2023)



Gambar 1.1. Pustaka Hasil Uji Praduga
(Dhafin, 2017)

2.2 Uji Penegasan (*Confirmed Test*)

Uji penegas dilakukan apabila uji penduga memiliki hasil yang positif. Suatu sampel yang telah dinyatakan positif pada uji sebelumnya yaitu dengan menunjukkan gas, diinokulasi pada media BGLB dan diinkubasi pada suhu dan jam yang telah ditetapkan. Jika terbentuknya gas pada media BGLB, pengujian dianggap positif. Hasil pengujian lalu dicatat dengan menjumlahkan total tabung yang memberikan hasil positif ditandai dengan hal tersebut dan dimasukkan ke dalam tabel APM, dimana pada tabel tersebut terdapat perolehan hasil dari pengujian yang telah dilakukan (Lestari *et al.*, 2023).

Uji penegasan dilakukan untuk membuktikan adanya bakteri koliform dan kolifekal (Hujjatusnaini *et al.*, 2022)



Gambar 1.2. Pustaka Hasil Uji Penegas
(Dhafin, 2017)

Pengujian ini dilaksanakan menggunakan BGLB. Media ini dapat menghentikan tumbuhnya bakteri terutama golongan Gram positif. Media BGLB tersebut memiliki kemampuan dalam membatasi pertumbuhan mikroba yang tidak diinginkan (Lestari *et al.*, 2023).

2.3 Uji Pelengkap (*Complete Test*)

Uji pelengkap dilakukan dengan menginokulasikan sekelompok bakteri digoreskan pada media agar dan diinkubasi pada 35 °C selama kurang lebih 24 jam. *Mac Conkey Agar* adalah media diferensial yang digunakan sebagai uji pelengkap, mengandung garam empedu dan kristal violet yang menghambat organisme Gram positif dan mendukung pertumbuhan Gram negatif. Media ini mengandung substrat laktosa dan indikator pH merah netral yang dapat membedakan koloni yang memfermentasi laktosa (merah) dengan koloni yang tidak memfermentasi (translucent). *Mac Conkey* biasa digunakan untuk membedakan strain *Salmonella typhosa* dari bakteri koliform lainnya. Bakteri koliform pada media *Mac Conkey*, akan membentuk koloni yang berwarna merah bata dan dikelilingi oleh zona empedu yang diendapkan. Hal ini terjadi karena adanya produksi asam sebagai hasil fermentasi laktosa. Asam yang dihasilkan bereaksi dengan garam empedu dan warna merah akan diserap oleh garam empedu yang diendapkan (Lestari *et al.*, 2018).

D. Landasan Teori

Pangan merupakan kebutuhan pokok manusia yang berguna untuk menunjang kelangsungan hidupnya. Pangan adalah kebutuhan dasar yang pemenuhannya menjadi hak asasi setiap rakyat Indonesia dalam mewujudkan sumber daya manusia yang berkualitas untuk melaksanakan pembangunan nasional (Kurnia, 2019). Keamanan pangan tidak terlepas dari higiene pangan, yaitu upaya mencegah pertumbuhan dan penyebaran mikroba patogen pada pangan, peralatan, dan bangunan yang dapat menimbulkan ancaman terhadap kesehatan (Yulianti *et al.*, 2022).

Analisis bakteri koliform dilakukan oleh Sinaga (2017) di Kota Medan menunjukkan adanya bakteri *Escherichia coli* pada 6 sampel es kristal dari 8 sampel dengan uji IMVIC. Nilai APM koliform secara berurutan dari sampel 1-8 yaitu 6,7/100 mL untuk sampel-1, 240/100 mL untuk sampel-2 hingga sampel-5, 38/100 mL untuk sampel-6 serta 240/100 mL untuk sampel 7 dan 8.

Penelitian terhadap bakteri koliform dan kolifekal dilakukan oleh Sari (2015) pada 5 sampel es kristal. Nilai APM koliform yang diperoleh secara berturut adalah 240/100 mL, 240/100 mL, 38/100 mL, 38/100 mL, dan 38/100 mL. Nilai kolifekal secara berturut yaitu 21/100 mL, 21/100 mL, 21/100 mL, 15/100 mL, dan 38/100 mL. Analisis keberadaan bakteri koliform dan *Escherichia coli* dari 8 sampel es batu yang ada di jajanan minuman di Pasar Tengah Bandar Lampung dilakukan oleh Efrida dan Oktira (2021) didapatkan nilai APM koliform hasil uji penegasan, sampel A dan sampel D yaitu 1600 APM/100 mL, sampel B sebanyak 79 APM/100 mL, sampel C yaitu 110 APM/100 mL, sampel E dan sampel H sebanyak 170 APM/100 mL, sampel F sebanyak 33 APM/100 mL, serta sampel G dengan nilai 23 APM/100 mL. Penelitian identifikasi bakteri koliform yang dilakukan oleh Sumarni *et al.* (2016) pada es batu dan es kristal yang digunakan penjual es buah dan warung di sekitar kampus Universitas Riau sampel, dari hasil uji biokimia TSIA, SCA, SIM, H₂S, dan Gas, ditemukan lima genus diantaranya genus *Bacillus* sp, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Citrobacter* dan *Micrococcus*

Bakteri koliform diketahui sebagai golongan bakteri batang Gram negatif, yang berperan dalam pemecahan laktosa. Bakteri ini sering digunakan sebagai salah satu indikator patogen pada hewan maupun manusia, dikarenakan jumlah koloninya memiliki hubungan positif dengan keberadaan bakteri patogen (Lestari *et al.*, 2023).

Kelompok koliform terdiri dari empat genera: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Citrobacter* (Manan, 2019).

Bakteri koliform dapat ditentukan jumlahnya dengan metode APM. Metode ini terdiri dari tiga tahap pengujian yaitu uji praduga, uji penegasan, dan uji pelengkap (Sri, 2015). Pengenceran harus dilakukan lebih tinggi daripada pengenceran dalam hitungan cawan dalam metode APM sehingga beberapa tabung yang berisi medium cair yang diinokulasikan dengan larutan hasil pengenceran tersebut mengandung satu sel jasad renik, beberapa tabung mungkin mengandung lebih dari satu sel, sedangkan tabung yang lain tidak mengandung sel.

Pengecatan Gram termasuk pengecatan diferensial, disebut demikian karena digunakan untuk membedakan dua kelompok besar yaitu mikrobial Gram negatif dan mikrobial Gram positif (Lestari *et al.*, 2018).

Uji biokimia adalah pengujian larutan atau zat-zat kimia dari bahan-bahan dan sejumlah proses yang terjadi dalam tubuh makhluk hidup, sebagai upaya untuk memahami proses kehidupan dari sisi kimia (Lehninger, 1995)

E. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori, maka dapat disusun hipotesis dari penelitian sebagai berikut:

1. Nilai APM koliform pada es kristal lebih kecil daripada nilai koliform pada es batu
2. Nilai pengujian APM pada sampel es kristal dan es batu yang beredar di salah satu kantin kampus kota Surakarta tidak memenuhi standar batas cemaran bakteri koliform yang telah ditetapkan dalam SNI 3839:2019
3. Bakteri koliform yang ditemukan di es kristal dan es batu yaitu *Escherichia coli*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella sp*, *Proteus sp*, *Salmonella*