

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyimpanan Makanan

Bahan makanan yang dibeli hendaknya disimpan dalam penyimpanan bahan makanan. Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 715 Tahun 2003 (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2003) tentang Persyaratan Higiene Sanitasi Jasaboga mensyaratkan tersedia ruang atau gudang untuk menyimpan bahan makanan dan terdapat sarana untuk penyimpanan makanan dingin. Dari hasil penelitian oleh Sukmara (2002), 68% pedagang kaki lima tidak memiliki tempat penyimpanan bahan makanan karena membeli bahan makanan untuk dimasak habis pada hari itu.

Karakteristik pertumbuhan bakteri pada makanan masak dipengaruhi oleh (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2012) :

a. Kadar air makanan

Bakteri akan tumbuh subur dalam makanan dengan tingkat aw (aktivitas air) atau air bebas yang tinggi (0,9). Makanan yang basah sangat disukai bakteri daripada makanan kering. Cirinya adalah dihitung dari aw yang terdapat dalam makanan. Air bebas adalah air yang berada dalam makanan yang statusnya bebas dan tidak terikat dengan molekul makanan. Contohnya kuah sayur, uap air yang mencair dan lain-lain. Air bebas ini akan digunakan bakteri untuk hidup.

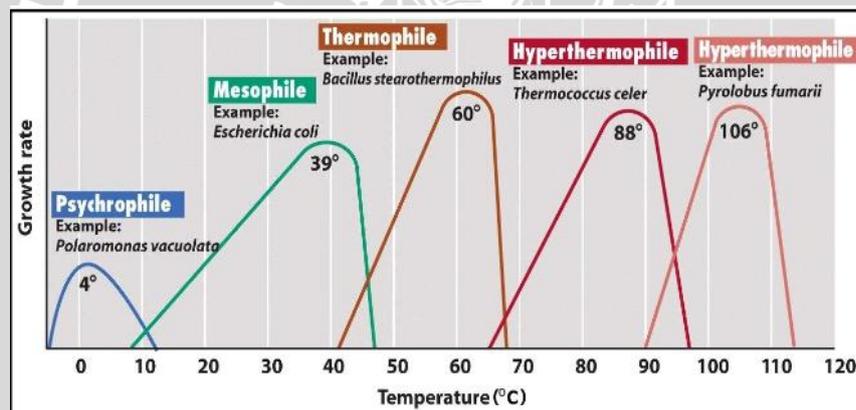
b. Jenis makanan

Tubuh bakteri terdiri dari protein dan air. Jadi makanan yang diperlukan oleh bakteri adalah makanan yang mengandung protein dan air. Karena itu

bakteri akan tumbuh subur pada makanan yang mengandung protein dan kadar airnya tinggi. Makanan yang mengandung protein tinggi seperti telur, daging, ikan dan susu serta hasil olahannya disukai oleh bakteri, sehingga mudah rusak.

c. Suhu makanan

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan yang paling penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup bakteri (Siti Zubaidah, 2000). Secara umum ada 4 kelompok pembagian mikroorganisme berdasarkan suhu lingkungan tempatnya hidup, yaitu psikrofil, mesofil, termofil, dan hipertermofil.



Gambar 2.1 Hubungan Suhu dan Pertumbuhan pada Kelompok Mikroorganisme dengan Temperatur yang Berbeda (Madigan, et al., 2009)

Suhu makanan masak yang cocok untuk pertumbuhan bakteri yaitu suhu yang berdekatan dengan suhu tubuh manusia (37°C). Pada suhu ini pertumbuhan bakteri akan sangat cepat. Pada suhu lebih dingin atau lebih panas dari 37°C, bakteri akan semakin lambat tumbuhnya. Pada suhu dibawah 10°C bakteri sama sekali tidak tumbuh dan pada suhu 60°C bakteri mulai mati. Oleh karena itu diusahakan makanan selalu berada pada suhu

dimana kuman tidak tumbuh yaitu pada suhu dibawah 10°C atau di atas 60°C.

2.2 Pengangkutan Makanan

Pengangkutan makanan yang baik akan sangat berperan dalam mencegah terjadinya pencemaran makanan. Dalam proses pengangkutan makanan banyak pihak yang terkait mulai dari persiapan, pewadahan, orang, suhu dan kendaraan pengangkut itu sendiri (Menteri Kesehatan Republik Indonesia, 2012).

1. Pengangkutan Bahan Makanan

Pencemaran selama dalam pengangkutan dapat berupa pencemaran fisik, mikroba maupun kimia. Untuk mencegahnya adalah membuang atau setidaknya mengurangi sumber yang akan menyebabkan pencemaran.

Caranya yaitu :

- a. Mengangkut bahan makanan tidak bercampur dengan bahan berbahaya dan beracun (B3) seperti pupuk, insektisida atau bahan berbahaya lainnya.
- b. Kendaraan pengangkut makanan tidak dipergunakan untuk mengangkut bahan lain seperti untuk mengangkut orang, hewan atau barang-barang.
- c. Kendaraan yang digunakan harus diperhatikan kebersihannya agar setiap akan digunakan untuk mengangkut makanan selalu dalam keadaan bersih.
- d. Pemakaian kendaraan yang telah mengangkut bahan kimia atau pestisida perlu dihindari, walaupun telah dicuci masih akan terjadi pencemaran.

- e. Perlakuan manusia yang menangani makanan selama pengangkutan, seperti perlakuan makanan yang ditumpuk, diinjak, dibanting, diduduki atau bahkan menjadi alas tempat tidur perlu dihindari.
- f. Kendaraan yang digunakan untuk mengangkut bahan makanan dikonstruksi secara higiene seperti kendaraan pengangkut daging dari rumah potong hewan atau perusahaan *supplier*.

2. Pengangkutan Makanan Siap Santap

Makanan siap santap lebih rawan terhadap pencemaran sehingga perlu perlakuan yang ekstra hati-hati. Oleh karena itu, dalam prinsip pengangkutan makanan siap santap perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut :

- a. Setiap makanan mempunyai wadah masing-masing, isi makanan tidak terlampaui penuh untuk mencegah terjadinya kondensasi.
- b. Wadah yang dipergunakan harus utuh, kuat dan ukurannya memadai dengan makanan yang ditempatkan dan terbuat dari bahan anti karat atau bocor.
- c. Pengangkutan untuk waktu yang lama harus diatur suhunya agar tetap panas 60°C atau tetap dingin 4°C.
- d. Wadah selama dalam perjalanan tidak boleh terbuka sampai di tempat penyajian.
- e. Kendaraan pengangkutan disediakan khusus dan tidak dipergunakan untuk keperluan mengangkut bahan lain.

Menurut Djaja (2003), tempat pengolahan makanan yang banyak melakukan pengangkutan matang dari dapur ke tempat penyajian adalah pedagang kaki lima. Alat pengangkut yang digunakan sangat sederhana seperti sepeda dan gerobak, sehingga kemungkinan makanan yang sudah matang akan

terkontaminasi kembali oleh bakteri bila cara pengangkutan tidak sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan.

2.3 Bakso

Bakso merupakan salah satu produk olahan daging yang bergizi tinggi. Bahan penyusun utamanya adalah daging dan tepung tapioka. Pengolahan daging menjadi bakso bertujuan untuk memperpanjang daya simpan, meningkatkan nilai estetika dan meningkatkan nilai ekonomis (Musfiroh, 2009).

Pada umumnya bahan baku utama bakso biasanya terbuat dari daging segar yang belum mengalami *rigormortis*. Daging sapi fase *pre-rigormortis* memiliki daya ikat air yang tinggi, dalam arti kemampuan protein daging mengikat dan mempertahankan air tinggi sehingga menghasilkan bakso dengan kekenyalan tinggi. Hal ini didukung oleh perubahan daging sapi fase *pre-rigormortis* ke *rigormortis* selama penggilingan, pencampuran, penghalusan, pencetakan dan perebusan sangat memacu kekenyalan bakso. Pada kondisi perubahan fase ini, disamping daya ikat air-protein tinggi, protein aktin dan miosin belum saling berinteraksi menjadi aktomiosin, pH cukup tinggi, akumulasi asam laktat cukup rendah dan tekstur tidak lunak (Prastuti, 2010).

Mutu bahan baku sangat mempengaruhi tingkat kekenyalan bakso yang dihasilkan. Semakin bagus mutu bahan baku yang digunakan, hasilnya akan semakin enak dan kenyal. Bahan yang bisa digunakan sebagai bahan baku bakso di antaranya daging sapi, daging ayam, ikan, cumi, dan udang. Penanganan setiap bahan baku berbeda, tergantung pada teksturnya (Alamsyah, 2010).

Bakso sebagai salah satu produk industri pangan, memiliki standar mutu yang telah ditetapkan menurut Standar Nasional Indonesia.

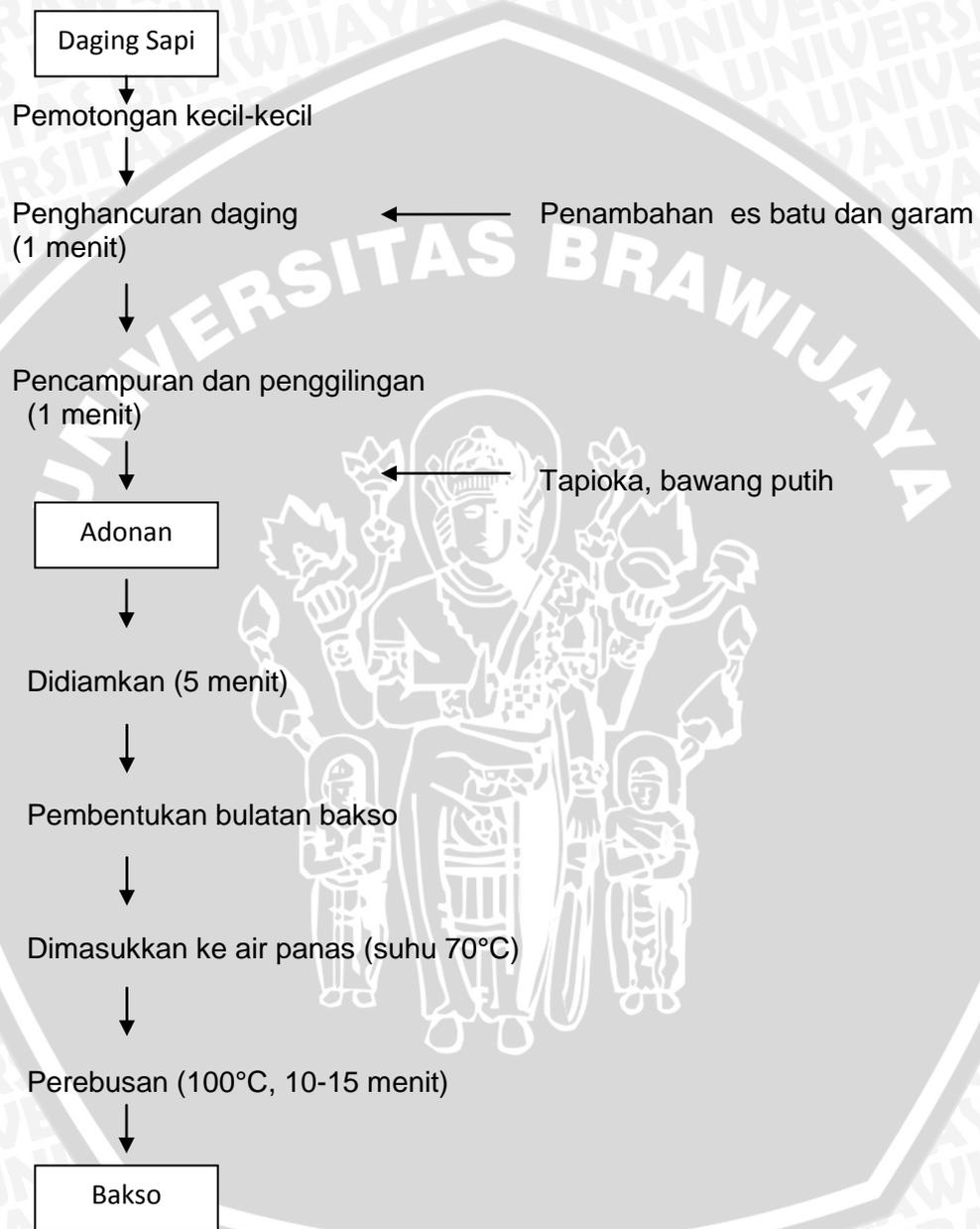
Tabel 2.1 Syarat Mutu Bakso

No.	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan		
1.1	Bentuk,	-	Normal, khas daging
1.2	Bau	-	Gurih
1.3	Rasa	-	Normal
1.4	Warna	-	Kenyal
2.	Air	% b/b	Maks 70,0
3.	Abu	% b/b	Maks 3,0
4.	Protein	% b/b	Min 9,0
5.	Lemak	% b/b	Maks 2,0
6.	Boraks	-	Tidak boleh ada
7.	Bahan Tambahan Makanan		Sesuai dengan SNI
8	Cemaran logam		
8.1	Timbal	mg/kg	Maks 2,0
8.2	Tembaga	mg/kg	Maks 20,0
8.3	Seng	mg/kg	Maks 40,0
8.4	Timah	mg/kg	Maks 40,0
8.5	Raksa	mg/kg	Maks 0,03
9.	Cemaran Arsen	mg/kg	Maks 1,0
10.	Cemaran Mikroba		
10.1.	Angka Lempeng Total	koloni/g	Maks 1×10^5
10.2.	Bakteri bentuk koli	APM/g	Maks 10
10.3.	<i>Escherichia coli</i>	APM/g	< 3
10.4.	<i>Enterococci</i>	koloni/g	Maks 1×10^3
10.5.	<i>Clostridium perfringens</i>	koloni/g	Maks 1×10^2
10.6.	<i>Salmonella</i>	-	Negatif
10.7.	<i>Staphylococcus aureus</i>	koloni/g	Maks 1×10^2

Badan Standar Nasional, 1995

Pembuatan bakso terdiri dari persiapan bahan, penghancuran daging yang bertujuan untuk memecah serabut daging, sehingga protein yang larut dalam larutan garam akan mudah keluar, pencampuran bahan dan pembuatan adonan, pencetakan dan pemasakan. Pemasakan bakso biasanya dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama, bakso dipanaskan dalam panci berisi air hangat sekitar 60°C sampai 80°C, sampai bakso mengeras dan mengambang di permukaan air. Pada tahap selanjutnya, bakso dipindahkan ke dalam panci lainnya yang berisi air mendidih, kemudian direbus sampai matang, biasanya sekitar 10 menit. Pemasakan bakso dalam dua tahap tersebut dimaksudkan agar

permukaan produk bakso yang dihasilkan tidak keriput dan tidak pecah akibat perubahan suhu yang terlalu cepat (Effendi, 2009).



Gambar 2.2 Diagram Proses Pembuatan Bakso (Anshori, 2002)

2.4 Kerusakan Bahan Pangan oleh Mikroorganisme

Kelompok mikroorganisme dalam pangan terdiri atas beberapa spesies dan strain bakteri, khamir, kapang, dan virus. Bakteri, khamir, kapang, dan virus berperan penting dalam pangan karena kemampuan mikroorganisme tersebut menyebabkan kerusakan dan penyakit akibat pangan. Bakteri merupakan kelompok terbesar diantara empat kelompok mikroorganisme pangan, karena bakteri dapat berada hampir di semua jenis pangan dengan laju pertumbuhan yang tinggi (Sopandi dan Wardah, 2014)

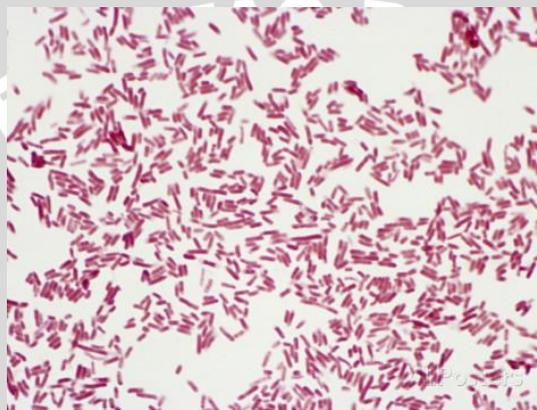
Pada umumnya kerusakan mikrobiologis tidak hanya terjadi pada bahan mentah, tetapi juga pada bahan setengah jadi maupun pada bahan hasil olahan. Kerusakan ini sangat merugikan dan kadang-kadang berbahaya bagi kesehatan karena racun yang diproduksi, penularan serta penjalaran kerusakan yang cepat. Bahan yang telah rusak oleh mikroba juga dapat menjadi sumber kontaminasi yang berbahaya bagi bahan lain yang masih sehat atau segar (Susiwi, 2009).

Penyakit akibat makanan terjadi ketika mikroorganisme terdapat dalam makanan sampai mencapai Minimum Infektif Dosis (MID), yang merupakan jumlah mikroorganisme yang diperlukan untuk menyebabkan penyakit pada manusia. Ketika makanan dimakan, mikroorganisme bekerja langsung pada usus. Dalam beberapa kasus, mikroba menginfeksi permukaan usus; pada orang lain, mereka menyerang struktur tubuh dan lainnya. Sebagian besar penyakit akibat makanan mengakibatkan beberapa derajat diare dan *distress* abdominal. Beberapa faktor yang mempengaruhi meliputi status kekebalan, keefisienan patogen dalam menembus target jaringan, dan jumlah organisme patogen yang memasuki tubuh (USDA, 2012).

2.5 *Escherichia coli*

2.5.1 Morfologi

Escherichia coli termasuk kelompok bakteri berbentuk batang aerob fakultatif Gram negatif dengan tebal 0,5 μm , panjang antara 1,0 - 3,0 μm , berbentuk seperti filamen yang panjang, tidak berbentuk spora, bersifat Gram negatif (Maksum dan Atiek, 2010).



Gambar 2.3 Morfologi *E coli* (Willis, 2011)

Gambar mikroskopis *Escherichia coli* setelah pewarnaan Gram diatas dilihat dengan cahaya perbesaran 40x dengan pewarna *methylen blue*. Bakteri *Escherichia coli* nampak bewarna merah dengan bentuk batang pendek yang membentuk koloni seperti filamen yang memanjang sehingga bakteri *Escherichia coli* bersifat Gram negatif (Willis, 2011).

2.5.2 Klasifikasi

Klasifikasi *Escherichia coli* menurut Songer dan Post (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
Filum : *Proteobacteria*
Kelas : *Gamma Proteobacteria*
Ordo : *Enterobacteriales*
Famili : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Escherichia*
Spesies : *Escherichia coli*

2.5.3 Patogenesis dan gejala penyakit

Beberapa galur *Escherichia coli* menjadi penyebab infeksi pada manusia, seperti infeksi saluran kemih, infeksi meningitis pada neonatus, dan infeksi intestin (gastroenteritis). Ketiga penyakit infeksi tersebut sangat bergantung pada ekspresi faktor virulensi masing-masing serotipe *Escherichia coli*, termasuk adanya adhesin, invasin, jenis toksin yang diproduksi, dan kemampuan mengatasi pertahanan tubuh hospes. Infeksi *Escherichia coli* sering kali berupa diare yang disertai darah, kejang perut, demam, dan terkadang dapat menyebabkan gangguan pada ginjal. Infeksi *Escherichia coli* pada beberapa penderita, anak-anak di bawah 5 tahun, dan orang tua dapat menimbulkan komplikasi yang disebut dengan sindrom uremik hemolitik. Sekitar 2-7% infeksi *Escherichia coli* menimbulkan komplikasi. Sebagian besar penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Escherichia coli* ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi di tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Radji, 2015).

2.6 Pengukuran Jumlah *Escherichia coli*

2.6.1 Metode Total Plate Count (TPC)

Prinsip dari metode hitungan cawan atau *Total Plate Count (TPC)* adalah menumbuhkan sel mikroorganisme yang masih hidup pada media agar, sehingga mikroorganisme akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Dwidjoseputro, 2005).

Metode ini merupakan metode yang paling sensitif untuk menentukan jumlah mikroorganisme. Dengan metode ini, kita dapat menghitung sel yang masih hidup, menentukan jenis mikroba yang tumbuh dalam media tersebut serta dapat mengisolasi dan mengidentifikasi jenis koloni mikroba tersebut. Uji Total Plate Count menggunakan media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Sebelum mikroorganisme ditumbuhkan dalam media, terlebih dahulu dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan fisiologis. Tujuan dari pengenceran sampel yaitu mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat. Pengenceran memudahkan dalam perhitungan koloni. Keuntungan dari metode TPC adalah dapat mengetahui jumlah mikroba yang dominan. Keuntungan lainnya dapat diketahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam contoh. Adapun kelemahan dari metode ini adalah:

- a. Memungkinkan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel mikroba, seperti pada mikroba yang berpasangan, rantai atau kelompok sel.
- b. Memungkinkan ini akan memperkecil jumlah sel mikroba yang sebenarnya. Kemungkinan adanya jenis mikroba yang tidak dapat tumbuh karena penggunaan jenis media agar, suhu, pH, atau kandungan oksigen selama masa inkubasi.

- c. Memungkinkan ada jenis mikroba tertentu yang tumbuh menyebar di seluruh permukaan media, sehingga menghalangi mikroba lain. Hal ini akan mengakibatkan mikroba lain tersebut tidak terhitung.
- d. Penghitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikrobnya antara 30 – 300 koloni. Bila jumlah populasi kurang dari 30 koloni akan menghasilkan penghitungan yang kurang teliti secara statistik, namun bila lebih dari 300 koloni akan menghasilkan hal yang sama karena terjadi persaingan diantara koloni (Kemdikbud, 2013).

Penentuan jumlah angka mikroorganisme sangat penting dilakukan untuk menetapkan keamanan suatu sediaan farmasi dan makanan. Berbagai metode telah dikembangkan untuk menghitung jumlah mikroorganisme. Cara yang paling umum digunakan untuk menghitung jumlah bakteri adalah penghitungan jumlah bakteri hidup. Dengan metode ini, pengenceran berseri dari sampel yang mengandung mikroorganisme ditanam pada media pertumbuhan yang sesuai. Suspensi dapat disebar pada permukaan pelat agar (*spread plate method*) atau dicampur dengan agar cair, yang kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan memadat (Mukhlis, 2008).

- a. Metode Agar Tuang (*Pour Plate Method*)

Metode agar tuang, seperti halnya metode penghitungan jumlah kuman hidup lainnya, dilakukan dengan mencampurkan sampel pada media padat yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme, dan kemudian menginkubasi pelat sehingga setiap sel bakteri dapat membelah dan membentuk koloni. Karena kita pada umumnya tidak mempunyai gambaran tentang jumlah bakteri dalam sampel, penyiapan pengenceran berseri hampir selalu dibutuhkan untuk

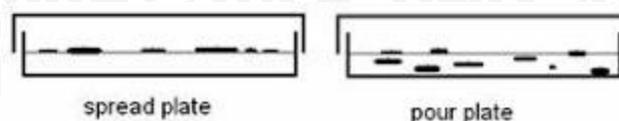
memastikan bahwa kita akan mendapatkan pengenceran dengan jumlah bakteri yang dapat dihitung (Kemdikbud, 2013).

Pengenceran yang biasanya dilakukan adalah 10^{-1} sampai 10^{-8} , walaupun pada tipe sampel tertentu, jarak tersebut dapat dilanggar, sebagai contoh, untuk air yang tidak keruh, pengenceran maksimal yang diperlukan adalah 10^{-6} karena diketahui jika ada 10^{-7} atau lebih bakteri per mililiter, air akan menjadi keruh. Pada metode agar tuang, inokulum mikroorganisme dicampur dengan agar cair (suhu 45° - 50°C) sehingga bakteri tercampur relatif merata pada media padat. Meskipun demikian, tidak semua bakteri dapat hidup pada temperatur 45°C , hal ini menunjukkan kelemahan prosedur ini (Kemdikbud, 2013).

b. Metode sebar di Atas Pelat Agar

Teknik atau cara ini, sesuai dengan namanya, adalah teknik dengan menyebarkan sampel (yang telah diencerkan) di atas permukaan pelat agar dalam cawan petri. Umumnya antara 0,1 ml dan 1 ml sampel disebarkan di permukaan media padat dengan menggunakan tangkai gelas steril (batang pengaduk). Cawan kemudian diinkubasi dan jumlah koloni yang tumbuh dihitung (Radji, 2008).

Proses penanaman bakteri ini hanya dilakukan di permukaan bakteri saja. Teknik ini menguntungkan jika ditinjau dari sudut ekonomi dan waktu, tetapi memerlukan keterampilan-keterampilan yang diperoleh dengan latihan. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah. Tetapi kelemahan metode ini adalah bakteri-bakteri anaerob tidak dapat tumbuh, karena goresan hanya dilakukan di permukaan media saja (Kemdikbud, 2013).



Gambar 2.4 Metode *Spread plate* dan *Pour plate* (Kemdikbud, 2013)

Pada gambar 2.4 dapat dilihat bahwa pada metode goresan atau *spread plate*, bakteri hanya tumbuh pada permukaan media yang digores saja, sementara pada metode cawan tuang atau *pour plate*, bakteri tumbuh tidak hanya di permukaan media saja tetapi diseluruh bagian media (Kemdikbud, 2013).

Untuk melaporkan analisis mikrobiologi digunakan suatu standar yang disebut "*Standard Plate Count*" yang menjelaskan cara menghitung koloni pada cawan serta cara memilih data yang ada untuk menghitung jumlah koloni dalam suatu contoh. Cara menghitung koloni pada cawan harus memperhatikan hal-hal berikut ini :

- a. Cawan yang dipilih dan dihitung adalah yang mengandung jumlah koloni antara 30 sampai 300.
- b. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu merupakan suatu kumpulan koloni yang besar dimana jumlah koloninya diragukan, dapat dihitung sebagai satu koloni.
- c. Suatu deretan atau rantai koloni yang terlihat seperti suatu garis tebal dihitung sebagai satu koloni.

Bila salah satu dari cawan petri menunjukkan jumlah koloni ≤ 30 atau ≥ 300 maka hitung jumlah rata-rata koloni, kemudian dikalikan dengan faktor pengencerannya (Kemdikbud, 2013).

2.6.2 Identifikasi Koloni Bakteri *Escherichia coli*

Eosin methylene blue agar merupakan salah satu media selektif yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri Gram negatif termasuk *Escherichia coli*. Eosin dan pewarna biru metilen menghambat pertumbuhan

bakteri Gram positif dan mendukung pertumbuhan bakteri Gram negatif (Dickinson, 2013).

Media ini mengandung laktosa dan sukrosa. Laktosa adalah karbohidrat dan Dipotassium Fosfat adalah buffer. Eosin Y dan Methylene Biru adalah indikator. Metilen biru juga merupakan agen selektif. Mikroba yang tidak dapat memfermentasi laktosa, koloninya tidak berwarna, sedangkan mikroba yang dapat memfermentasi laktosa akan menghasilkan koloni dengan inti berwarna gelap dan kilap logam, seperti *Escherichia coli* (Himedia, 2011).

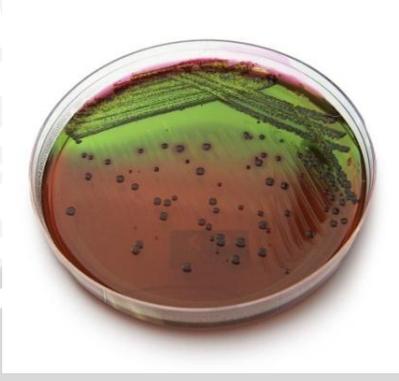
Secara umum komposisi medium *Eosin methylene blue* agar terdapat pada tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi Medium EMB Agar

Komposisi	Jumlah
Pepton	10 g
Laktosa	5 g
Sukrosa	5 g
Dikalium fosfat	2 g
<i>Eosin Y</i>	0,4 g
Biru metilen	0,065 g
Agar	15 g
Air destilata	1000 ml

ISO Standard 21150, 2006

Pada media ini, *Escherichia coli* yang tumbuh akan memberikan warna khas hitam atau gelap pada bagian pusat koloni dengan kemilau hijau metalik sehingga media ini cocok untuk mengkonfirmasi bahwa kontaminan tersebut adalah *Escherichia coli*, seperti pada gambar 2.5.



Gambar 2.5 Media EMBA yang Positif *Escherichia coli* (Chen, 2012)

