

## ANALISIS CEMARAN BAKTERI *COLIFORM* PADA SAUS TOMAT JAJANAN BAKSO TUSUK YANG BEREDAR DI MANADO

Karlah L. R. Mansauda<sup>1)</sup>, Fatimawali<sup>1)</sup> dan Novel Kojong<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

<sup>1)</sup>Program Studi Farmasi FMIPA UKIT Tomohon

### ABSTRACT

The tomato sauce is one of the processed foods that are often presented as a complement to a wide variety of foods that many consumers demand. But in the daily life the cleanliness of tomato sauce is often overlooked. This research aims to analyze the microbial contamination of 12 tomato sauces of bakso tusuk snack in the city of Manado such as examining total plate count, coliform bacteria and *Escherichia coli* bacterial identification. This type of research is Observational. The results showed that of the 12 samples of tomato sauce all sample are positive bacterial contaminated, coliform bacteria contaminated and *Escherichia coli* is contained in all sample. Testing of microbial contamination showed that tomato sauce samples did not meet predetermined requirements in SNI 01-3546-2004 and Regulation of the Food and Drug Administration of The Republic of Indonesia number HK.00.06.1.52.401.

Key words : Tomato sauce, Total Plate Count, Coliform, *Escherichia coli*

### ABSTRAK

Saus tomat adalah salah satu makanan olahan yang sering disajikan sebagai pelengkap untuk berbagai macam makanan yang banyak diminati konsumen. Akan tetapi dalam kehidupan sehari-hari kebersihan dari saus tomat sering kali terabaikan. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kontaminasi mikroba pada 12 saus tomat jajanan bakso tusuk yang beredar di Kota Manado meliputi pemeriksaan angka lempeng total, bakteri *coliform* dan identifikasi *Escherichia coli*. Jenis penelitian yang digunakan bersifat Observasional. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 12 sampel saus tomat semua sampel positif tercemar bakteri, bakteri *coliform* serta bakteri *Escherichia coli*. Pengujian cemaran mikroba menunjukkan bahwa sampel saus tomat tidak memenuhi syarat yang telah ditetapkan dalam SNI 01-3546-2004 dan Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor HK.00.06.1.52.401.

Kata kunci : Saus tomat, Angka Lempeng Total, *Coliform*, *Escherichia coli*.

## PENDAHULUAN

Makanan diperlukan untuk kehidupan karena makanan merupakan salah satu kebutuhan pokok bagi kehidupan manusia. Makanan berfungsi untuk memelihara proses tubuh dalam pertumbuhan atau perkembangan serta mengganti jaringan tubuh yang rusak, memperoleh energi untuk melakukan aktivitas sehari-hari, mengatur metabolisme dan berbagai keseimbangan air, mineral, dan cairan tubuh yang lain, juga berperan di dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap berbagai penyakit (Notoatmodjo, 2003). Akan tetapi makanan juga sering terkontaminasi oleh kontaminan kimia dan kontaminan biologi. Salah satu kontaminan biologi yang paling sering dijumpai pada makanan adalah bakteri golongan *Coliform* yaitu *Escherichia coli*.

*E. coli* berasal dari tinja manusia dan hewan, tertular ke dalam makanan karena perilaku penjamah yang tidak higienis, pencucian peralatan yang tidak bersih, kesehatan para pengolah dan penjamah makanan serta penggunaan air pencuci yang mengandung *coliform*, *E. coli*, dan faecal *coliform* (Susanna dan Hartono, 2003).

Kontaminasi bakteri patogen pada makanan dan minuman dapat menyebabkan berbagai macam penyakit diantaranya typhoid, diare, keracunan makanan dan lain sebagainya (Siagian, 2002). Penyakit-penyakit ini akan lebih mudah menjangkiti orang yang mengalami penurunan daya tahan tubuh karena faktor dari dalam (intrinsik) maupun dari luar (ekstrinsik). Oleh karena itu, untuk menjamin kesehatan dan keselamatan konsumen, harus dilakukan pemeriksaan laboratorium bakteriologik secara berkala (Lesmana, 2003).

Saus tomat juga sering disajikan sebagai pelengkap berbagai macam makanan lainnya, contohnya jajanan bakso tusuk yang sering dikonsumsi oleh anak sekolah maupun orang dewasa. Namun perlu dipertanyakan kebersihan dari

makanan tersebut, mengingat cara pembuatan dan penjualan makanan ini rentan terhadap kontaminasi bakteri, yang dapat membahayakan kesehatan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui total mikroba dan ada tidaknya bakteri *E. coli* pada saus tomat jajanan bakso tusuk yang beredar di Manado.

Tujuan Penelitian ini adalah untuk menguji adanya cemaran bakteri yang dihitung berdasarkan Angka Lempeng Total (ALT), Menguji adanya cemaran bakteri *Coliform*, dan Mengidentifikasi adanya kandungan bakteri *Escherichia coli* pada saus tomat jajanan bakso tusuk yang beredar di Kota Manado.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu *Plate Count Agar* (PCA) Merck, *Pepton Dilution Fluid* (PDF), *BD Brilliant Green Lactose Bile 2% (BGLB) Broth*, *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) HIMEDIA, *Nutrient Agar* (NA) Merck, *Mac Conkey Broth* (MCB) Merck, MR-VP medium (*Glucose Phosphate Broth*) HIMEDIA, BD™ *Difco Motility Indol Ornithine* (MIO) Medium, BD BBL™ *Simmons Citrate Agar* (SCA), *Nutrient Agar* (NA) Merck, Larutan Kovac Merck, Kristal Violet, Lugol, Alkohol 95% OneMed, Safranin, Alfanaftol 1% dan Larutan Kalium Hidroksida (KOH) 40%.

Alat yang digunakan yaitu *Autoclave All American No.75X*, *Laminar Air Flow OMRON H3BA*, Memmert Modell 200 *incubator*, *Microscoph Olympus CX21*, Adam Pgw 1502i *Precision Balance*, Cimarec *Hotplate*, Brand *Micropipette*, Lemari Pendingin, Jarum Ose, Spritus, Kaca Preparat *Sail Brand*, Kaca penutup *Sailing Boat* dan alat-alat gelas *Pyrex*.

### Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan diambil dari 4 wilayah Manado, yaitu Manado Utara 3 sampel, Manado Selatan 4 sampel,

Manado Tengah 2 sampel, Manado Timur 3 sampel. Jumlah yang digunakan adalah 12 yang adalah keseluruhan dari jumlah pedagang yang ada di Manado pada waktu pengambilan sampel. Sampel diambil per wilayah dengan menggunakan wadah yang telah disterilkan dengan penyinaran sinar UV selama 30 menit kemudian ditutup rapat dan dibawa ke laboratorium untuk diteliti.

### Teknik Penetapan Angka Lempeng Total (ALT)

Sampel dipipet sebanyak 25,0 ml ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 225 ml larutan pengencer *Peptone Dilution Fluid* (PDF) dan dikocok sampai homogen. Selanjutnya dilakukan pengenceran secara serial sehingga didapatkan yang sesuai. Dari masing-masing hasil pengenceran sampel dipipet 1,0 ml ke dalam cawan petri steril, kemudian dituangkan 15-20 ml media *Plate Count Agar* (PCA), yang telah dicairkan dan didinginkan hingga temperaturnya 45°C. Percobaan dilakukan secara duplo dan disertakan cawan petri yang mengandung media dan larutan pengencer yang tidak mengandung sampel sebagai kontrol uji (blanko). Setelah media membeku, inkubasi cawan petri pada suhu 37°C selama 24 jam dengan posisi terbalik.

Dihitung koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri. Angka total bakteri dalam 1 gram sampel adalah dengan mengalikan jumlah rata-rata koloni pada cawan petri dengan faktor pengenceran yang digunakan.

### Uji Most Probable Number (MPN) *Coliform*

Pengujian MPN dilakukan dua tahap, yaitu Uji Praduga (*Presumptif Test*) yang kemudian dilanjutkan dengan Uji Penegasan (*Confirmative Test*).

#### a. Uji Praduga

Ditimbang 25 gram sampel kemudian ditambahkan 225 ml PDF dan

dikocok homogen hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-1}$ . Disiapkan dua tabung reaksi masing-masing berisi 9 ml PDF. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan sampel dipipet 1 ml pengenceran  $10^{-1}$  ke dalam tabung PDF pertama hingga diperoleh suspensi dengan pengenceran  $10^{-2}$  dan dikocok sampai homogen kemudian dibuat pengenceran hingga  $10^{-3}$ .

Untuk setiap pengenceran disiapkan 3 tabung reaksi berisi 9 ml *Mac Conkey Broth* (MCB) yang dilengkapi tabung durham kedalam tiap tabung dari masing-masing seri dimasukkan 1 ml suspensi pengenceran. Diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24-48 jam. Setelah 24 jam dicatat dan diamati perubahan warna biakan dan adanya gas yang terbentuk di dalam tiap tabung. Kemudian untuk tabung yang tidak membentuk gas diinkubasi dilanjutkan hingga 48 jam dan dicatat tabung-tabung yang menunjukkan uji positif (warna biakan menjadi kuning dan ada gas dalam tabung durham).

#### b. Uji Penegasan

Biakan tabung yang menunjukkan uji praduga positif dipindahkan satu sengkeli ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml *Briliant Green Lactose Bile 2%* (BGLB) *Broth* yang telah dilengkapi tabung durham. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Dilakukan pengamatan adanya pembentukan gas. Pernyataan hasil uji MPN *Coliform* ini yaitu jumlah tabung yang positif dicatat dan dirujuk pada tabel MPN. Angka yang diperoleh menyatakan jumlah bakteri *coliform* dalam tiap gram/tiap ml sampel yang diuji.

### Uji *Escherichia Coli*

Masing-masing biakan positif pada uji konfirmasi bakteri *coliform*, diambil satu sengkeli dan diinokulasikan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dipilih koloni warna hijau dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan dari media EMBA dan

digoreskan pada media miring *Nutrient Agar* (NA).

Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam selanjutnya dilakukan uji biokimia untuk identifikasi *Escherichia coli* dengan uji IMViC (Indol, *Methyl Red*, Voges-Proskauer, dan *Citrate*).

### **Pewarnaan Gram**

Biakan media miring NA pada uji *Escherichia coli* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Secara aseptis diambil 1 ose sampel diletakkan pada masing-masing kaca preparat kemudian sampel dipanaskan diatas api bunsen hingga terfiksasi.

Satu tetes kristal violet diteteskan di atas kaca preparat tersebut kemudian didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades. Larutan Lugol diteteskan di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades. Kemudian diteteskan etanol 95% di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades mengalir hingga warnanya hilang.

Teteskan 1 tetes safranin di atas kaca preparat kemudian didiamkan selama 1 menit. Setelah itu, kaca preparat dibilas dengan aquades mengalir. Setelah pembilasan terakhir, kaca preparat ikerangkan dan diamati di bawah mikroskop.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)**

Uji Angka Lempeng Total (ALT) merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah

mikroba pada suatu sampel. Uji ALT menggunakan media padat untuk memudahkan perhitungan koloni dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Intepretasi hasil berupa angka dalam koloni per ml atau koloni per g.

PCA adalah media yang umumnya digunakan sebagai tempat menumbuhkan mikroba dipermukaan sehingga membentuk koloni yang dapat dilihat, dihitung dan diisolasi. Masa inkubasi dilakukan selama 1 x 24 jam dengan membalik cawan petri yang berisi biakan. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari jatuhnya butir air hasil pengembunan disebabkan suhu inkubator. Apabila sampai terdapat air yang jatuh maka akan merusak pembacaan angka lempeng total dari sampel yang diuji.

Sebagai kontrol negatif disertakan blanko, yaitu cawan petri yang mengandung media dan larutan pengencer yang tidak mengandung sampel yang kemudian diinkubasi bersama-sama pada suhu 37°C selama 24 jam.

Untuk perhitungan koloni, berdasarkan data perhitungan koloni dari sampel 1 sampai sampel 12 dari masing-masing sampel hanya dihitung pengenceran dengan jumlah koloni antara 30-300. Karena dilakukan dua kali (duplo) maka hasil harus di ambil rata-ratanya terlebih dahulu dan kemudian dimasukkan dalam rumus dan dibandingkan dengan standar uji cemaran mikroba SNI 01-3546-2004 untuk saus tomat.

Hasil Pengujian Angka Lempeng Total didapatkan hasil seperti pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Pengujian Angka Lempeng Total Saus Tomat Jajanan Bakso Tusuk

Sampel	Angka Lempeng Total (koloni/g)	Standar (koloni/g)	Keterangan
1	1,4 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
2	1,6 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
3	2,6 x 10 <sup>6</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
4	1,3 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
5	1,1 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
6	1,3 x 10 <sup>6</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
7	1,4 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
8	1,8 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
9	0,7 x 10 <sup>9</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
10	2,7 x 10 <sup>8</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
11	1,4 x 10 <sup>7</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS
12	7,1 x 10 <sup>5</sup>	2 x 10 <sup>2</sup>	TMS

Keterangan: TMS: Tidak Memenuhi Syarat

Dari Tabel 4 diketahui bahwa semua sampel yang ada yaitu sampel 1 sampai dengan sampel 12 menunjukkan hasil yang tidak memenuhi syarat kesehatan mutu berdasarkan SNI 01-3546-2004 tentang batas cemaran mikroba pada saus tomat dengan jumlah angka lempeng total mikroba maksimal 2 x 10<sup>2</sup> koloni/g. Tingginya nilai ALT ini dicurigai karena proses pembuatan saus tomat jajanan bakso tusuk yang diolah sendiri oleh pedagang tidak higienis, mulai dari peralatan masak yang kotor, air yang digunakan untuk pencucian bahan, air yang dicampurkan ke dalam saus tomat telah tercemar, dan tempat penjualan yang berlokasi di pinggir jalan.

#### Pengujian Most Probable Number (MPN) *Coliform*

Pengujian MPN menggunakan media *Mac Conkey Broth* (MCB) dan tabung Durham. MCB merupakan media

perbenihan selektif, di dalam media ini mengandung laktosa dan garam empedu (*bile salt*) yang mengidentifikasi adanya bakteri *coliform* yang tumbuh. *Coliform* adalah kelompok bakteri gram negatif berbentuk batang yang pada umumnya menghasilkan gas jika ditumbuhkan dalam medium laktosa dan terbentuknya asam ditandai dengan perubahan warna biakan menjadi putih atau kuning. Tabung Durham digunakan untuk mengetahui adanya pembentukan gas oleh bakteri yang terdapat dalam sampel tersebut. Tahap ini masih merupakan uji presumtif.

Uji konfirmasi digunakan media selektif yaitu media *Brilliant Green Lactose Bile 2%*. (BGLB) *broth*. Selain mengandung laktosa seperti halnya MCB, BGLB juga mengandung *Brilliant Green* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif.

Tabel 5. Hasil MPN *Coliform* Pada Saus Tomat Jajanan Bakso Tusuk

Sampel	<i>Coliform</i> (APM/g)*	Standar <i>Coliform</i> (APM/g)*	Keterangan
1	1100	100	TMS
2	> 1100	100	TMS
3	1100	100	TMS
4	1110	100	TMS
5	1110	100	TMS
6	210	100	TMS
7	1110	100	TMS
8	> 1100	100	TMS
9	1100	100	TMS
10	210	100	TMS
11	460	100	TMS
12	1100	100	TMS

Keterangan: APM/g : Angka Paling Mungkin (APM)/gram.

Berdasarkan Tabel 5 diatas menunjukkan bahwa 12 (dua belas) saus tomat jajanan bakso tusuk yang diperiksa mengandung bakteri *Coliform* dengan jumlah bakteri *Coliform* yang tidak memenuhi syarat mutu kesehatan yang tercantum dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor HK.00.06.1.52.4011 yaitu maksimal 100 APM/g. Adanya bakteri *coliform* di dalam makanan/minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik dan atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan.

#### Identifikasi *Escherichia coli*

EMBA bersifat selektif differensial dalam menumbuhkan *Escherichia coli* karena dalam media ini mengandung eosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan hanya dapat menumbuhkan bakteri gram negatif. Laktosa dan zat pewarna eosin serta metilen biru mampu membedakan antara bakteri yang memfermentasi laktosa dengan non-fermenter. Koloni *E. coli*

tersebut kelihatan biru kehitaman dengan kilat hijau logam/metalik yang disebabkan besarnya kuantitas asam yang dihasilkan dan pengendapan zat pewarna di atas permukaan pertumbuhan. Uji IMViC digunakan untuk mengetahui jenis *coliform* yang terdapat di dalam contoh adalah uji IMViC, yang merupakan singkatan dari uji Indol, *Methyl Red*, *Voges-Proskauer*, dan *Citrate*

Hasil yang didapat menunjukkan semua sampel dari sampel 1 sampai dengan sampel 12 mengandung *E.coli* didalamnya berdasarkan uji IMViC dimana *E. coli* dinyatakan positif apabila uji indol dan metil merah menunjukkan hasil positif, sedangkan uji *Voges-Proskauer* dan uji sitrat menunjukkan hasil negatif. Sampel yang paling banyak menunjukkan hasil positif adalah sampel 2, dimana dari 9 tabung yang diujikan masing-masing sampel terdapat 5 tabung yang positif *E.coli* sedangkan sampel yang paling sedikit menunjukkan hasil positif adalah sampel 6, sampel 7, sampel 8, sampel 9 dan sampel 12, dimana hanya

terdapat 2 tabung yang positif mengandung *E.coli*.

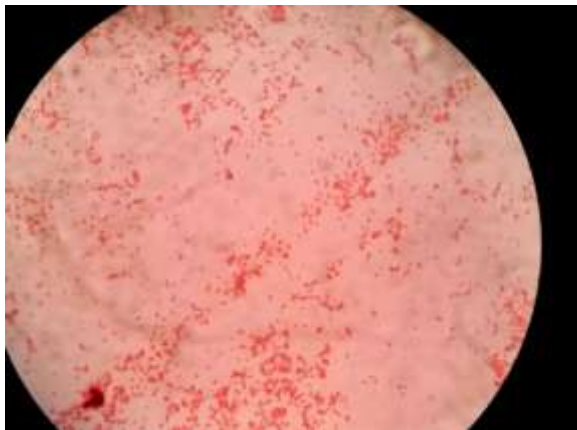
Uji Indol menggunakan media *Tryptone Broth* yang mengandung substrat triptofan. *E.coli* akan membentuk indol dari triptofan sebagai sumber karbon. Penumpukan indol dalam media dapat diketahui dengan penambahan reagen kovaks.

Uji metil merah positif ini disebabkan sifat *E.coli* yang dapat memfermentasikan glukosa. Metil merah berwarna merah pada lingkungan dengan pH 4.4 dan berwarna kuning dalam pH 6.2. Sehingga ketika suasana menjadi asam akan mengakibatkan warna media berubah menjadi merah.

Uji Voges-Proskauer digunakan untuk membedakan antara organisme yang menghasilkan asam dalam jumlah yang besar dan yang menghasilkan nonasidik atau produk netral seperti asetilmetilkarbinol (asetoin) dari hasil metabolisme glukosa

### Pewarnaan Gram Bakteri

Adapun hasil pewarnaan Gram dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Pada Mikroskop

Dari Gambar 1 dapat diketahui bahwa bakteri yang terlihat dari hasil pengamatan dibawah mikroskop adalah bakteri berwarna merah setelah proses pewarnaan. Hal ini disebabkan karena perbedaan struktur dinding sel. Dinding sel bakteri Gram negatif mengandung lipida

yang tinggi, sehingga sewaktu pencucian dengan larutan pemucat menyebabkan pembesaran lubang pori-pori dan meningkatkan permeabilitas zat warna. Pencucian menyebabkan kompleks zat warna pertama terlepas. Sedangkan pada dinding sel bakteri Gram positif mengandung lipida rendah, sehingga sewaktu penambahan alcohol terjadi dehidrasi dan pengecilan lubang pori-pori. Ini menyebabkan zat warna tetap terikat, dan sel tetap berwarna ungu (Lay dan Hastowo, 1992).

## PENUTUP

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada sampel saus tomat jajanan bakso tusuk, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Semua sampel positif mengandung bakteri dengan Angka Lempeng Total dengan koloni tertinggi adalah sampel 1 dengan jumlah koloni  $1,4 \times 10^9$  koloni/g sedangkan terendah adalah sampel 12 dengan jumlah koloni yaitu  $7,1 \times 10^5$  koloni/g,
2. Semua sampel positif mengandung bakteri *coliform* dengan MPN *Coliform* tertinggi adalah sampel 2 dan 8 yaitu  $>1100$  APM/g dan terendah adalah sampel 6 dan 10 yaitu 210 APM/g.
3. Semua sampel positif mengandung bakteri *Eschericia coli*.

Hasil pengujian yang didapat dari semua uji ALT dan MPN *Coliform* tidak memenuhi syarat yang telah ditetapkan dalam SNI 01-3546-2004 tentang batas maksimum Angka Lempeng Total (ALT) pada saus tomat adalah  $2 \times 10^2$  koloni/g sedangkan menurut Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia nomor HK.00.06.1.52.401, batas maksimum Most Probable Number (MPN) *Coliform* pada saus tomat adalah 100 koloni/g.

**DAFTAR PUSTAKA**

- BPOM RI. 2009. *Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia Dalam Makanan* No. HK.00.06.1.52.4011. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Lay. B, Hastowo, S. 1992. *Mikrobiologi*. Penerbit CV Rajawali. Jakarta.
- Lesmana, M. 2003. *Enterobacteriaceae: Salmonella & Shigella*. FK Universitas Trisakti, Jakarta.
- Notoatmodjo, S. 2003, *Pendidikan dan Perilaku Kesehatan*. Rineka Cipta, Jakarta.
- Siagian, A. 2002. *Mikroba Patogen Pada Makanan dan Sumber Pencemarannya*. USU digital library.
- SNI 01-3546-2004. *Saus Tomat*, Dewan Standarisasi Nasional, Jakarta.
- Susanna, D, Hartono, B. 2003. *Pemantauan Kualitas Makanan Ketoprak Dan Gado-Gado Di Lingkungan Kampus UI Depok, Melalui Pemeriksaan Bakteriologis*. FKM UI, Depok