

ANALISIS BAKTERI *Escherichia coli* PADA MAKANAN SIAP SAJI DI KANTIN RUMAH SAKIT X DAN KANTIN RUMAH SAKIT Y

Inggit Saridewi¹, Arief Pambudi¹, dan Yulia Fitria Ningrum^{2*}

¹Program studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Al Azhar Indonesia, ²Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan Dan Pengendalian Penyakit Jakarta

*Email: tsuki_fitri@yahoo.com

ABSTRACT

The increasing human activity makes the preference for fast food increases. However, some people do not pay attention to the hygiene conditions of food processed from food stalls. Food handlers, equipment utilization, food processing, clean water, and the packaging are the critical points of bacterial contamination. *Escherichia coli* is a bacterium that usually used as the indicator of food hygiene. The objective of this study is to examine the contamination of coliform bacteria, especially *E. coli* at two hospital cafeteria by using MPN method and questionnaire regarding the implementation of the basic principles of hygiene. Stages of tests performed that are the presumption test, confirmation test, complementary test, gram stain test, biochemical test IMViC and supported by a questionnaire. From the two locations tested, some samples showed positive result in a presumption test and confirmation test but negatively complementary to biochemical test. This indicates that the sample does not contain *E. coli* bacteria in food, but there is the possibility of *Citrobacter*. The negative results of the IMViC test showed that it is possible bacteria found in the presumption test and confirmation test not *E. coli* and non-pathogenic bacteria. Based on the results of the questionnaire, most of restaurant owner has understood to served food. Food at the hospital X and Y cafeteria are safe to consume because it has a negative *E. coli*.

Keywords: biochemistry IMViC, Escherichia coli, fast food, hygiene and sanitation.

PENDAHULUAN

Salah satu kebutuhan pokok bagi manusia atau hewan adalah makanan yang berfungsi untuk pertumbuhan dan perkembangan, memperoleh energi, mengatur metabolisme serta berperan di dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap berbagai penyakit (Notoatmodjo 2003). Perkembangan teknologi dapat mengubah gaya hidup masyarakat seperti berubahnya pola hidup seseorang dengan lebih banyak mengkonsumsi makanan siap saji daripada makanan yang bergizi dan alami (Ngaffi 2014).

Kehadiran makanan siap saji di kalangan masyarakat menjadikan makanan tersebut lebih dipilih karena dianggap lebih efisien. Makanan siap saji memiliki keunggulan namun memiliki resiko bagi kesehatan karena pengolahan makanan yang tidak higienis sehingga memungkinkan makanan terkontaminasi bakteri berbahaya, selain itu lokasi dari makanan siap saji berada sangat berpengaruh seperti rumah sakit yang memungkinkan terjadinya penyebaran penyakit atau kontaminasi bakteri (Depkes RI 2004), sehingga pengunjung kantin dan penjaga kantin cenderung memiliki imunitas rendah, selain itu rumah sakit memiliki sumber pencemar seperti limbah infeksius dan limbah patologi, limbah farmasi (obat kadaluarsa), limbah sitotoksik, limbah medis padat tajam, serta limbah

radioaktif (Depkes RI 2004).

Kontaminasi sering berada pada makanan adalah *Escherichia coli* yang menyebabkan diare. Diare merupakan penyakit yang menjadikan seseorang buang air besar dengan tekstur lunak bahkan berupa air saja dalam jangka waktu sedikit namun terjadi lebih dari 3 kali (Depkes RI 2011). Menurut Surveilans Terpadu Penyakit (STP) puskesmas dan rumah sakit (RS) angka insiden diare selama lima tahun dari tahun 2002 sampai tahun 2006 cenderung berfluktuasi dari 6,7 per 1000 pada tahun 2002 menjadi 9,6 per 1000 pada tahun 2006 (angka insiden bervariasi antara 4,5-25,7 per 1000), sedangkan dari Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) tahun 2001 penyakit diare menduduki urutan ke dua dari penyakit infeksi dengan angka morbiditas sebesar 4,0% dan mortalitas 3,8%.

Syarat utama dalam menentukan kualitas makanan yang baik adalah dengan meninjau ilmu sanitasi karena secara langsung maupun tidak langsung lingkungan kita berhubungan dengan mengolah atau menyediakan makanan (Marwanti 2010). Banyaknya makanan yang kurang diperhatikan oleh pengelola sehingga dapat mengakibatkan penyakit, maka perlu dilakukan penelitian terhadap makanan siap saji di kantin rumah sakit karena memiliki populasi rentan bakteri serta sumber kontaminasi sehingga dilakukan identifikasi bakteri *E. coli* yang paling banyak pada makanan dan minuman.

METODOLOGI

WAKTU DAN TEMPAT PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus 2016 – Oktober 2016. Lokasi penelitian di Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Jakarta. Pengambilan sampel makanan dilakukan di kantin Rumah sakit X dan kantin Rumah Sakit Y. Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode Most Probable Number (MPN) kemudian dilakukan uji biokimia.

ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan adalah tabung reaksi, tabung durham, cawan petri, pipet mikro 1000 µl dan 10 µl, jarum ose, bunsen, blender steril, autoklaf, laminar air flow, dan inkubator. Bahan yang digunakan adalah sampel makanan, biakan *E. coli*, Lauryl tryptose Broth (LB), *Escherichia coli* Broth (ECB), Eosin Metylen Blue Agar (EMBA), Tryptone Broth, media Metyl Red-Voges Proskauer (MR-VP), Reagen kovac, α - Napthol, KOH 40%, dan koser citrate broth.

LANGKAH KERJA

Pengambilan sampel

Sampel makanan diambil dari kantin di seluruh Rumah sakit X dan Rumah Sakit Y yang berjumlah 34 sampel. Pengambilan sampel menggunakan plastik steril dan bunsen.

Persiapan sampel

Sampel makanan di ambil dari plastik sampel kemudian ditimbang sebanyak 50gr. Sampel kemudian dihancurkan bersama Buffer field phosphate (BPS) sebanyak 450ml dengan blender hingga homogen. Sampel yang telah hancur, siap untuk digunakan.

Prosedur Pemeriksaan Pada Sampel

Sampel dilakukan dengan menggunakan uji Most Probable Number (MPN).

Pengenceran

Sampel makanan yang telah dihomogenkan dengan Buffer field phosphate (BPS) sebanyak 450 ml, kemudian dilakukan pengenceran dengan memasukkan sampel pada botol pertama (10-1) sebanyak 10 ml. Pada botol pertama (10-1) diambil 10 ml lalu memasukkan ke dalam botol kedua (10-2) yang telah diberi larutan Buffer field phosphate (BPS) sebanyak 450 ml. Pada botol kedua diambil 10 ml lalu memasukkan ke botol ketiga (10-3) yang telah diberi larutan Buffer field phosphate (BPS) sebanyak 450 ml (Gambar 2).

Tes Perkiraan (Presumptive Test)

Pada tes perkiraan disiapkan 9 tabung (seri 3-3-3) untuk pengenceran bertingkat. Disiapkan 9 tabung, masing masing berisi 9 ml Lauryl Tryptose Broth (LB) untuk tabung seri pertama (10-1) dan 9 ml untuk seri kedua (10-2) dan 9 ml untuk seri ketiga (10-3). Pada 3 tabung seri pertama (10-1) dimasukkan 1 ml sampel makanan yang telah dilarutkan dengan menggunakan pelarut BPS pada botol pertama (10-1). Pada 3 tabung seri kedua (10-2) dimasukkan 1 ml sampel makanan yang telah dilarutkan dengan pelarut BPS pada botol kedua (10-2). Pada 3 tabung seri ketiga (10-3) dimasukkan 1 ml sampel makanan yang telah dilarutkan dengan BPS pada botol ketiga (10-3) (Gambar 3). 15 tabung yang telah terisi sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati apakah terbentuk gas pada tiap-tiap tabung. Terbentuknya gas menandakan tes perkiraan positif dan dilanjutkan ke tes penegasan. Media LTB digunakan sebagai medium untuk mendeteksi kehadiran koliform dalam air dan makanan.

Tes Penegasan (Confirmed Test)

Hasil sampel yang positif pada tes perkiraan dapat dilanjutkan dengan memasukkan sampel positif ke dalam media EC broth untuk uji bakteri E. coli. Untuk uji E. coli, ditanam 1-3 ose biakan positif gas ke dalam tabung yang berisi 10 ml ECB yang didalamnya terdapat tabung durham terbalik. Sampel diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 44°C. Diamati tabung yang didalamnya terdapat gas. Banyaknya perkiraan kandungan E. coli dapat dilihat dan dibandingkan dengan tabel MPN.

Tes Pelengkap (Completed Test)

Hasil positif pada media EC Broth kemudian ditumbuhkan pada media Eosin Metilen Blue Agar (EMBA) dan hasil yang positif dilanjutkan dengan pemeriksaan uji biokimia. Media EMBA adalah media selektif dan diferensial yang digunakan untuk isolasi bakteri gram negatif dari spesimen klinis dan non-klinis. Tes pelengkap dilakukan dengan menanam hasil positif EC Broth sebanyak 1-3 ose ke media EMBA. Sampel diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif pada media EMBA (ditandai dengan penampakan fisik warna hijau metalik).

Pewarnaan gram

Hasil positif yang ditunjukkan pada media EMBA dapat dilanjutkan dengan pewarnaan gram untuk membedakan jenis gram bakteri gram positif dan gram negatif. Pewarnaan gram diawali dengan pembuatan preparat terlebih dahulu dari bakteri yang digunakan. Preparat diperoleh dari 1-3 ose biakan positif media EMB lalu diletakan di preparat dan diberikan 1-2 tetes larutan BPS kemudian dikeringkan. Preparat yang telah kering diberi 1 tetes larutan kristal violet yang didiamkan selama 1 menit serta dibilas dengan air yang mengalir. Kemudian, diberi larutan lugol yang didiamkan selama 1 menit dan dibilas dengan air yang mengalir. Setelah itu, di tambahkan aseton hingga warna pada preparat menghilang, sehingga dapat dilakukan penambahan safranin selama 15 detik dan dibilas dengan air yang mengalir. Proses selanjutnya adalah pengeringan yang dilanjutkan dengan pengamatan dengan mikroskop dengan perbesaran 100 kali.

Pengujian Biokimia (IMVIC)

Uji Indol. Biakan EMBA ditaman 1 ose ke dalam tryptone broth. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Setelah itu, ditambahkan 3-5 tetes pereaksi indol. Di homogenkan lalu didiamkan selama beberapa menit. Uji indol akan menunjukkan hasil positif bila larutan terdapat cincin merah.

Uji Merah Metil. Biakan EMBA ditanam 1 ose ke dalam MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian ditambahkan 3-5 tetes merah metil. Di homogenkan lalu didiamkan selama beberapa menit. Uji merah metil (Methyl Red) akan menunjukkan hasil positif bila larutan berwarna merah.

Uji VP (Voges Proskauer). Biakan EMBA ditanam 1 ose ke dalam MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, ditambahkan 0,6 ml larutan alfa naftol dan 0,2 ml larutan KOH 40%. Di homogenkan lalu didiamkan selama beberapa menit. Uji VP (Voges Proskauer) akan menunjukkan hasil positif bila larutan menunjukkan warna merah.

Uji Sitrat. Biakan EMBA ditanam 1 ose ke dalam simmons sitrat. Diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Uji sitrat akan menunjukkan hasil positif bila tidak terjadi pertumbuhan dan tidak mengeluarkan warna keruh.

Pembuatan Kontrol

Kontrol pada penelitian ini menggunakan biakan *E. coli* untuk control positif dan *E. aerogenes* untuk control negatif. Biakan *E. coli* dan *E. aerogenes* diberi perlakuan sama dengan prosedur pemeriksaan pada sampel makanan.

Kuisisioner

Kuisisioner diperoleh berdasarkan peraturan MENKES 1096 Tahun 2011 dan KEPMENKES No. 942/Menkes/SK/VII/2003

HASIL DAN PEMBAHASAN

METODE MOST PROBABLE NUMBER (MPN)

Penelitian yang diperoleh dari kantin rumah sakit X dan kantin rumah sakit Y menghasilkan nilai most probable number (MPN) seperti pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Dari hasil penelitian yang telah diperoleh dari kantin rumah sakit X adalah terbentuknya gas pada uji perkiraan dengan media LTB yang menunjukkan adanya kehadiran bakteri koliform (Bridson 2006), serta terbentuknya gas pada uji penegasan dengan media EC Broth untuk diferensiasi koliform dan uji konfirmasi *E.coli* dari makanan (Lal & Cheepthman 2007), namun pada uji pelengkap tidak terbentuknya perubahan warna yang menunjukkan negatif bakteri *E.coli* sehingga tidak dilakukan uji biokimia IMVIC lebih lanjut.

Dari hasil penelitian yang telah diperoleh dari kantin rumah sakit Y adalah terbentuknya gas pada uji perkiraan dengan media LTB dan uji penegasan dengan media EC Broth. Pada uji pelengkap hanya satu sampel yang mengalami perubahan warna menjadi hijau metalik sehingga diduga positif bakteri *E.coli*, kemudian dilakukan uji biokimia IMVIC lebih lanjut untuk mengkonfirmasi hasil pada uji pelengkap. Hasil dari uji biokimia IMVIC adalah indol negatif, metil red positif, Voges Proskauer negatif dan sitrat positif.

Metode yang dilakukan dengan metode MPN untuk menghitung jumlah bakteri dalam mendeteksi adanya kontaminasi bakteri dengan media cair yang merupakan kontaminan. Metode MPN juga dapat digunakan untuk pemeriksaan air yang dilakukan untuk mengetahui kontaminasi akibat bakteri koliform dan koli tinja (Sunardi 2014), sehingga penelitian ini melakukan pemeriksaan pada air. Penelitian yang diperoleh dari kantin rumah sakit X dan kantin rumah sakit Y menghasilkan nilai most probable number (MPN) seperti pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Dari hasil penelitian tes perkiraan MPN koliform pada air menunjukkan bahwa 7 dari 8 sampel mengandung bakteri golongan koliform. Tabung yang dinyatakan positif akan menunjukkan terbentuknya gas di dalam tabung Durham dan terjadi kekeruhan pada media LTB double. Hasil positif pada tes ini harus dilanjutkan pada tes selanjutnya dengan menanam sampel yang positif pada media Brilliant Green Lactosa Broth (BGLB) untuk melihat nilai MPN koliformnya (Tristyanto 2016).

Tabel 1. Hasil uji MPN pada makanan yang dilakukan pada kantin rumah sakit X

Nomor Sampel	Perkiraan	Penegasan	Pelengkap	Uji Biokimia			
	LTB Single (MPN/g)	E.C Broth		Indol	MR	VP	Citrat
(MPN/g)	EMBA						
(MPN/g)	Indol	MR	VP	Citrat			
4893	36	16	<3.0	-	-	-	-
4892	>1100	36	<3.0	-	-	-	-
4891	3.6	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4890	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4889	7.4	3.6	<3.0	-	-	-	-
4888	460	150	<3.0	-	-	-	-
4887	>1100	>1100	<3.0	-	-	-	-
4886	>1100	36	<3.0	-	-	-	-
4885	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4884	>1100	>1100	<3.0	-	-	-	-
4883	>1100	>1100	<3.0	-	-	-	-
4882	>1100	16	<3.0	-	-	-	-
4881	460	460	<3.0	-	-	-	-
4880	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4879	3.6	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4878	3.6	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4877	75	75	<3.0	-	-	-	-
4876	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
Kontrol positif				+	+	-	-
Kontrol negatif				-	-	-	+

Tabung yang menunjukkan hasil positif pada media LTB double akan menunjukkan terbentuknya gas dan terjadi kekeruhan. Hasil positif yang ditunjukkan pada uji ini harus dilanjutkan pada uji selanjutnya dengan menanam sampel positif pada media Brilliant Green Lactosa Broth (BGLB) untuk melihat nilai MPN koliformnya (Tristyanto 2016). Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 3 dari 4 sampel mengandung bakteri golongan koliform.

Menurut permenkes nomor 492 tahun 2010, kualitas air yang memenuhi syarat untuk total koliform dan E.coli adalah 0 koloni/ml sampel. Pengendalian pencemaran air adalah upaya pencegahan dan penanggulangan pencemaran air serta pemulihan kualitas air untuk menjamin kualitas air agar sesuai dengan baku mutu air (PP RI 2001).

PERKIRAAN (PRESUMTIVE TEST)

Penelitian yang dilakukan pada uji perkiraan mendapatkan hasil yang di peroleh dari kantin rumah sakit X adalah 14 sampel positif dan 4 sampel negatif sedangkan kantin rumah sakit Y adalah 8 sampel positif dan 8 sampel negatif. Uji perkiraan ini dinyatakan positif apabila terbentuknya gas dalam tabung Durham (Gambar 1).

Tabel 2. Hasil uji MPN pada makananyang dilakukan pada kantin rumah sakit Y

Nomor Sampel	Perkiraan	Penegasan	Pelengkap	Uji Biokimia			
	LTB Single (MPN/g)	E.C Broth (MPN/g)	EMBA (MPN/g)	Indol	MR	VP	Citrat
4917	>1100	36	<3.0	-	-	-	-
4916	3.6	3.6	<3.0	-	-	-	-
4915	>1100	36	<3.0	-	-	-	-
4914	>1100	35	7.4	-	+	-	+
4913	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4912	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4911	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4910	460	460	<3.0	-	-	-	-
4909	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4908	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4907	43	23	<3.0	-	-	-	-
4906	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4905	>1100	>1100	<3.0	-	-	-	-
4904	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4903	<3.0	<3.0	<3.0	-	-	-	-
4902	11	3.0	<3.0	-	-	-	-
Kontrol positif				+	+	-	-
Kontrol negatif				-	-	-	+

Pada tahap ini merupakan pendahuluan dari metode MPN yang dilakukan untuk memperkirakan ada atau tidaknya bakteri koliform pada sampel uji. Sampel uji melalui proses 3 seri pengenceran yang ditumbuhkan dalam media LTB. Sampel Uji dapat dinyatakan positif apabila pada tabung durham terbentuk gas hasil hidrolisis laktosa oleh enzim bakteri dari kelompok koliform. Laktosa pada senyawa sulfat digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon untuk melakukan fermentasi. Fosfat dan nutrisi yang tinggi dalam media ini akan mempercepat pertumbuhan bakteri E.coli dan meningkatkan pembentukan gas (Bridson 2006).

Tabel 3. Hasil uji MPN pada minuman yang dilakukan pada kantin rumah sakit X.

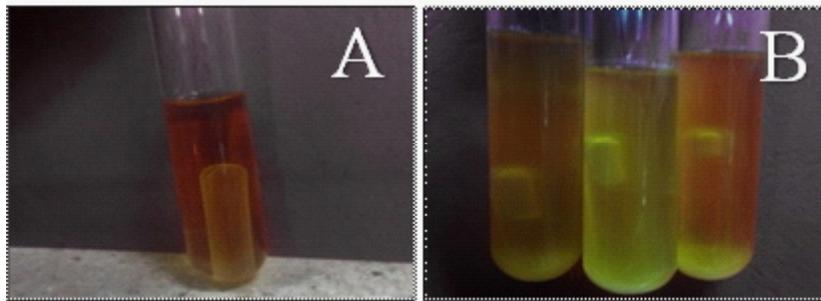
No Sampel	MPN Total Coliform	MPN E.coli
4894 (Air Minum)	3,6	1,1
4895 (Air Minum)	9,2	5,1
4896 (Air Minum)	>23	5,1
4897 (Air Gula)	>23	<1,1
4898 (Es Batu)	<1,1	<1,1
4899 (Air Bersih)	920	-
4900 (Air Minum)	16	3,6
4901 (Air Minum)	<1,8	-

Media LTB mengandung senyawa lauryl sulfat yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroba non koliform karena sebagian bakteri non koliform tidak menghidrolisis laktosa. Keunggulannya ini membuat media LTB lebih direkomendasikan untuk pengujian koli (Wahjuningsih 2001).

UJI PENEGASAN (CONFIRMED TEST)

Uji penegasan pada penelitian ini menggunakan media EC Broth (Escherichia coli Broth) mendapatkan hasil

yang di peroleh dari kantin rumah sakit X adalah 11 sampel positif dan 7 sampel negatif sedangkan kantin rumah sakit Y adalah 8 sampel positif dan 8 sampel negatif. Tabung yang telah diuji pada tes perkiraan menunjukkan hasil positif pada tabung durham kemudian dilakukan uji lebih lanjut ke dalam tes penegasan dengan media EC Broth diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Feng et al. 2002) bila tabung media keruh diinterpretasikan sebagai positif E.coli (Juwita et al. 2014) (Gambar 2).



Gambar 1. Hasil negatif pada Media LTB (A), dan Hasil positif pada media LTB (B)

EC Broth berfungsi untuk diferensiasi fekal koliform dan uji konfirmasi untuk E.coli dari makanan dan sampel lingkungan. Bila media berubah dari kuning jernih menjadi kuning keruh dan terdapat gas di dalam tabung durham menunjukkan hasil positif terhadap bakteri koliform terutama E.coli (Lal & Cheepthman 2007). Tabung menunjukkan hasil yang positif pada tabung durham karena terbentuknya gas yang terlihat pada Gambar 2.

Tabel 4. Hasil uji MPN pada minuman yang dilakukan pada kantin rumah sakit Y.

<i>No Sampel</i>	<i>MPN Total Coliform</i>	<i>MPN E.coli</i>
4918 (<i>Air Gula</i>)	> 23	6,9
4919 (<i>Es Batu</i>)	< 1,1	< 1,1
4920 (<i>Air Minum Isi Ulang</i>)	20	6,9
4921 (<i>Air Bersih PAM</i>)	6,1	-

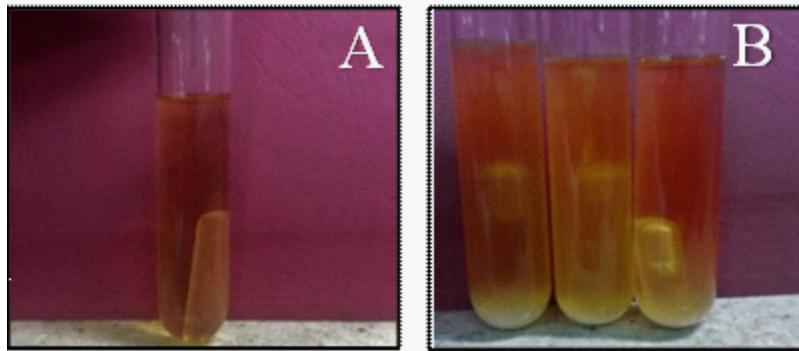
UJI PELENGKAP (COMPLETED TEST)

Hasil positif yang ditunjukkan pada media EC Broth kemudian diuji ke dalam tes pelengkap. Tes pelengkap yang dilakukan dengan menggunakan media EMBA menunjukkan hasil positif pada kantin rumah sakit Y sedangkan kantin rumah sakit X menunjukkan hasil negatif (Gambar 3).

Pada pH yang cukup rendah fermentor laktosa seperti E.coli menghasilkan koloni ungu dengan kemilau hijau metalik, sedangkan kurang keasaman dapat menghasilkan warna coklat-merah muda koloni. Fermentor Non laktosa muncul seperti transparan atau pink. EMBA mengandung Enzimatik dari gelatin yang merupakan sumber nitrogen. Laktosa pada EMB membuat gram negative tumbuh terdiferensiasi berdasarkan sifatnya sehingga memproses laktosa. Eosin Y dan Methylene biru dari media EMBA merupakan pewarna yang bergabung untuk membentuk kompleks pada pH asam dan menghambat bakteri gram positif (eosin pada tingkat lebih rendah), sementara eosin berubah warna, ke ungu gelap, ketika media sekitar koloni menjadi asam (Himedia 2011).

Hasil pertumbuhan bakteri pada cawan petri menghasilkan koloni ungu dengan kemilauan hijau metalik sehingga menunjukkan hasil positif pada media yang diduga koloni dari bakteri E.coli dengan batang Gram negatif

dan koloni berwarna merah muda dan transparan diduga adalah bakteri *Enterobacteria aerogenes* yang memiliki sifat Gram negatif bentuk batang.



Gambar 2. Hasil negatif (A), dan positif (B) pada media EC Broth

UJI PEWARNAAN GRAM

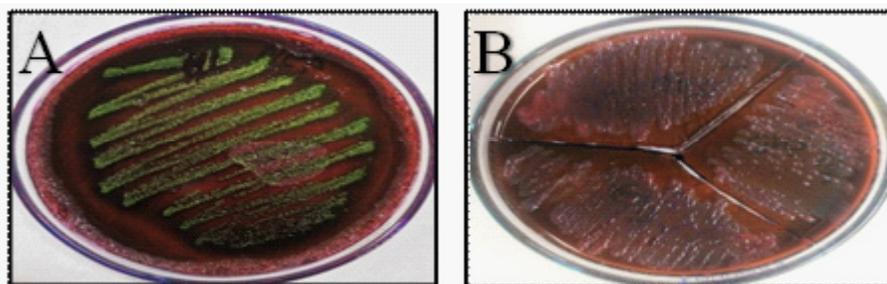
Sampel dari kantin rumah sakit Y yang menunjukkan hasil positif dapat melakukan uji pewarnaan gram sebelum melewati proses uji biokimia. Uji pewarnaan gram pada sampel menghasilkan gram negatif (Gambar 4).

Bakteri gram negatif merupakan bakteri yang hanya memiliki sedikit lapisan peptidoglikan dan tidak mengandung asam pada dinding selnya namun mengandung sejumlah polisakarida dan lebih rentan terhadap kerusakan mekanik dan kimia. Pewarnaan gram merupakan proses untuk mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri. Perbedaan pada gram positif dan gram negatif terjadi karena penyusunan peptidoglikan dan struktur selnya berbeda (Prasetyo 2009).

UJI BIOKIMIA IMVIC

Uji Indol

Hasil positif yang ditunjukkan pada media EMB kemudian diuji ke dalam uji biokimia. Uji biokimia terdiri dari uji indol, uji merah metil, uji Voges Praskauer, dan uji sitrat (Arifin 2013). Uji indol menunjukkan hasil negatif karena ditandai larutnya senyawa amino benzealdehid dalam air sehingga tidak membentuk warna merah seperti cincin sebagai pembentukan indol (Lumantouw et al. 2013) (Gambar 5).



Gambar 3. Hasil biakan di media EMB diduga positif bakteri *E. coli* (A) dan hasil biakan di media EMB diduga negatif bakteri *E. coli* (B).

Cincin merah yang disebabkan oleh indol yang bereaksi dengan aldehida ketika ditetaskan dengan reagen kovac. Bakteri *E. coli* akan teroksidasi oleh tryptophan sebagai sumber karbon (Sridhar 2006). Uji indol adalah salah satu komponen asam amino yang terdapat pada protein, sehingga asam amino umum digunakan oleh mikroorganisme

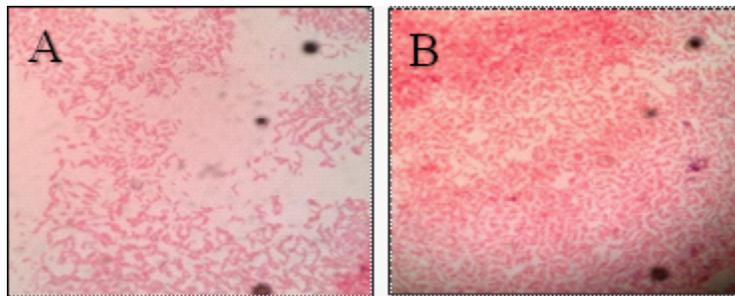
untuk penguraian protein. E.coli menghasilkan enzim triptofanase sehingga penguraian gugus indol dapat dikatalis dari triptofan. Gugus indol pada media akan menumpuk sebagai produk buangan dan molekul triptofan (asam piruvat dan NH₄⁺) kemudian digunakan untuk memenuhi kebutuhan zat hara mikroorganisme.

Tabel 5. Rekapitulasi hasil uji dari total sampel kedua rumah sakit

Sampel yang di uji	Uji perkiraan	Uji penegasan	Uji pelengkap	Uji Indol	Uji MR	Uji VP	Uji Sitrat
Rumah Sakit X	18	14	11	0	-	-	-
Rumah Sakit Y	16	8	8	1	-	+	+
Kontrol Positif	-	-	-	+	+	-	-
Kontrol Negatif	-	-	-	-	-	-	+

Uji Merah Metil (Methyl Red)

Uji Merah Metil (Methyl Red) digunakan untuk mendeteksi bakteri dengan asam campuran. Hasil pengamatan untuk Uji MR pada isolat bakteri E. coli adalah positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah (Gambar 6). Beberapa bakteri dapat memfermentasikan glukosa dan menjadikan berbagai produk bersifat asam sehingga dapat menurunkan pH media menjadi 5,0 atau lebih rendah. Penambahan indikator pH merah metil ke dalam kultur bakteri setelah inkubasi menunjukkan adanya perubahan pH menjadi asam. Merah metil berwarna merah pada lingkungan dengan pH 4,4 dan berwarna kuning dalam lingkungan dengan pH 6,2 (Widyawati 2012).



Gambar 4. Hasil pewarnaan gram dari sampel (A) dan kontrol positif (B)

Uji Voges-Proskauer

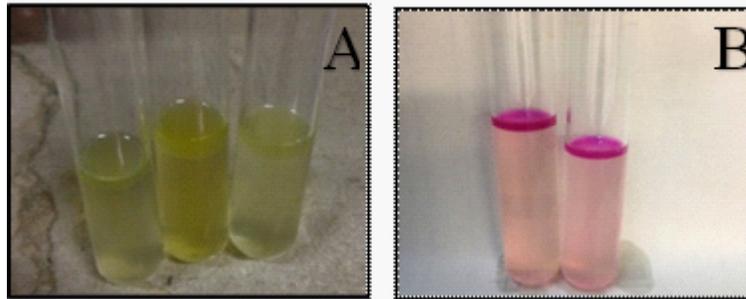
Uji Voges-Proskauer yang dilakukan dalam pengamatan menunjukkan hasil negatif karena tidak adanya perubahan warna terhadap larutan VP (Gambar 7). Uji VP digunakan untuk mengidentifikasi bakteri melewati fermentasi karbohidrat oleh bakteri menjadi 2,3 butanadiol yang dijadikan sebagai produk utama sehingga terjadi penumpukan dalam media. Bila KOH ditambahkan pada media akan membentuk senyawa (asetoin) acetylmethylcarbinol namun proses tersebut tergantung pada pencernaan glukosa terjadi, bila glukosa pecah maka akan bereaksi dengan alpha-naftol. Perubahan warna memperjelas proses dari pembentukan asetoin menjadi warna merah cherry, sedangkan hasil yang tidak terjadi pembentukan asetoin menunjukkan warna kuning coklat (Sridhar 2006). Asetoin merupakan perantara dalam produksi butilen glikol. Alpha-naftol berfungsi untuk katalis dan penguat warna (Kataria et al. 2013).

Uji Sitrat

Uji Sitrat umumnya digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dengan menggunakan sitrat. . Uji sitrat pada pengamatan ini memberikan hasil positif (Gambar 8). Medium Koser sitrat berupa medium cair yang tidak mengandung indikator. Bila suatu bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi dari bakteri, maka asam yang terkandung dalam media akan dihilangkan sehingga tidak terjadi perubahan warna atau sedikit biru

(negatif), namun pada medium koser sitrat memiliki kemampuan menggunakan sitrat (positif) yang menunjukkan dengan kekeruhan yang menandakan tidak ada pertumbuhan (Mahardhika 2013).

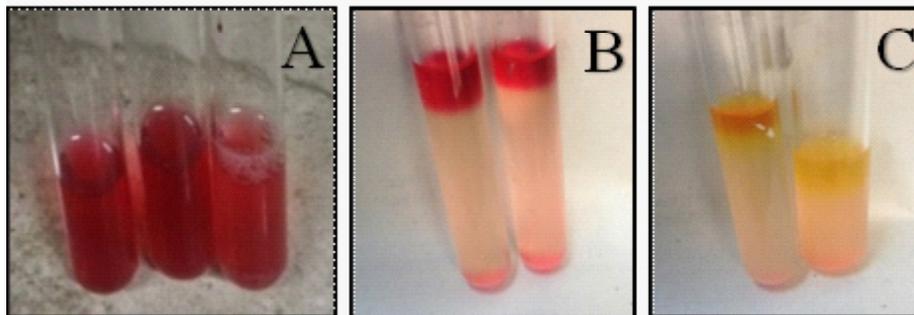
Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, hasil uji E.coli pada makanan siap saji di kantin rumah sakit dapat dilihat setelah sampel diinokulasikan pada media EMB, koloni yang tumbuh memiliki ciri- ciri seperti pada hygiene positif yang telah diberi kultur E.coli sehingga perlu diuji lanjutan dengan uji biokimia IMVIC. Hasil uji biokimia IMVIC pada sampel menunjukkan bahwa hasil uji indol negatif, uji merah metil positif, uji Voges-Proskauer negatif dan uji sitrat negatif. Ijong dan Dien (2011) mengatakan bahwa bakteri yang tumbuh pada media EMB namun



Gambar 5. Hasil uji indol pada sampel negatif (A), dan positif pada biakan E.coli (B)

tidak tumbuh pada uji biokimia dapat diduga bahwa hasil pengamatan yang diperoleh bukan E.coli.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa sampel makanan yang diperoleh dari kantin rumah sakit X dan kantin rumah sakit Y dapat di katakan tidak mengandung bakteri E.coli namun kemungkinan adanya bakteri yang memiliki sifat yang sama dengan E.coli yaitu Citrobacter. Hal tersebut dikarenakan sampel menunjukkan warna hijau metalik (positif) pada media EMB namun menunjukkan hasil negatif pada uji biokimia IMVIC. Beberapa strain Citrobacter akan mengeluarkan warna kemilau hijau yang sama dengan E. coli bila di pantulkan oleh cahaya disebabkan metilen biru di media dari tingginya asam yang dihasilkan dari fermentasi (Lindquis 2004). Citrobacter



Gambar 6. Uji merah metil pada sampel menunjukkan hasil positif (A), pada kontrol negatif (B) dan kontrol positif (C).

merupakan bakteri gram negatif, tidak berspora, tidak berkapsul, dan bergerak aktif dengan flagella. Bakteri ini mudah tumbuh pada media biasa dalam situasi aerob (Soemarno 2000).

HUBUNGAN HYGIENE DAN SANITASI DENGAN KUALITAS MAKANAN DI KANTIN

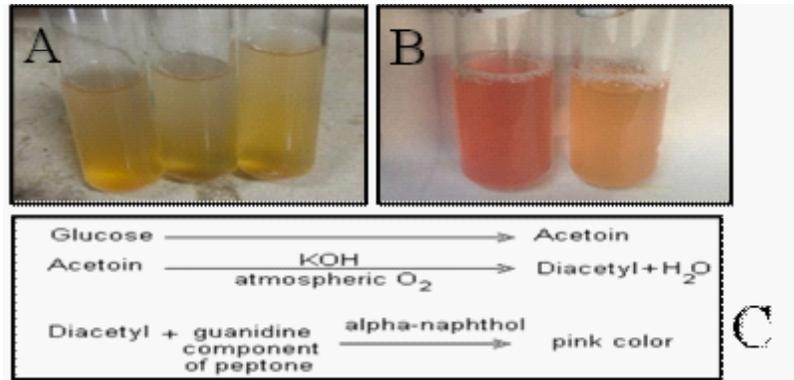
Pemilik kedai dapat di kategorikan telah memahami prinsip hygiene dan sanitasi bila makanan yang dikelola termasuk kedalam syarat yang telah di tentukan. Syarat tersebut dilakukan dengan menggunakan kuisioner yang

mengacu pada permenkes 1096 Tahun 2011 tentang hygiene sanitasi jasaboga dan kepmenkes No. 942/Menkes/SK/VII/2003. Kuisisioner dibagikan di kantin rumah sakit X sebanyak 14 kedai dan kantin rumah sakit Y sebanyak 10 kedai. Berdasarkan hasil kuisisioner, rumah sakit X sedikit lebih higienis dengan skor penilaian sebesar 96.24%, dibandingkan rumah sakit Y yang memiliki skor penilaian sebesar 94.8% (Tabel 6).

Dari hasil analisis kuisisioner yang telah didapat menyatakan bahwa pemilik kedai atau warung makanan umumnya telah memahami prinsip dari hygiene dan sanitasi. Hygiene dan sanitasi menjadi salah satu upaya kesehatan dengan cara memelihara dan melindungi kebersihan makanan sehingga mengurangi terjadinya kontaminasi pada makanan. Penyebab dominan terjadinya kontaminasi makanan adalah dari penjamah makanan itu sendiri (Ninie 2005). Kontaminan yang paling sering dijumpai pada makanan adalah bakteri koliform, *Escherichia coli* dan fekal

Tabel 6. Hasil kuisisioner pemahaman hygiene bagi penjaja makanan di kedua RS

	Objek Penelitian	Kantin rumah sakit X(%)	Kantin rumah sakit Y(%)
Kebersihan pribadi	Tidak menderita batuk-batuk atau pilek	100 %	100 %
	Tidak menderita diare	100%	100%
	Tidak berkuku panjang	100 %	100 %
	Memakai penutup kepala	71.4%	90%
	Memakai pakaian kerja	71.4%	70%
	Menutup luka	100%	100%
	Mencuci tangan	92.8%	80%
	Tidak menggaruk kepala	100%	100%
	SUB TOTAL	91.95%	92.5%
Peralatan	Di cuci setiap selesai di gunakan	100%	100%
	Dikeringkan atau ditiriskan	100%	90%
	Tidak memakai peralatan sekali pakai	100%	100%
	SUB TOTAL	100%	96.7%
Air bersih dan bahan makanan	Berasal dari sumber yang memenuhi syarat	100%	100%
	Tidak menggunakan air mentah untuk di minum	100%	100%
	Bahan mentah dicuci terlebih dahulu	100%	100%
	Bukan dari bahan kadaluarsa	100%	100%
	Tidak mengandung bahan tambah pangan	100%	100%
	Bahan tambah pangan sesuai takaran	100%	90%
SUB TOTAL	100%	98.3%	
Makanan jadi	Dalam keadaan tertutup	85.7%	80%
	Penutup makanan bersih	85.7%	80%
	Makanan di ambil dalam keadaan tertutup	78.5%	80%
	Tidak bersatu dengan bahan mentah	92.8%	100%
	Jika lebih dari 6 jam dipanaskan kembali	100%	100%
	Mengambil makanan menggunakan alat	92.8%	80%
	SUB TOTAL	89.25%	86.7%
Pewadahan	Melindungi dari debu dan serangga	100%	100%
	Terdapat tempat cuci yang memadai	100%	100%
	Air pencucian diganti	100%	100%
	Sampah tidak menyebar	100%	100%
	SUB TOTAL	100%	100%
	RATA - RATA	96.24%	94.8%

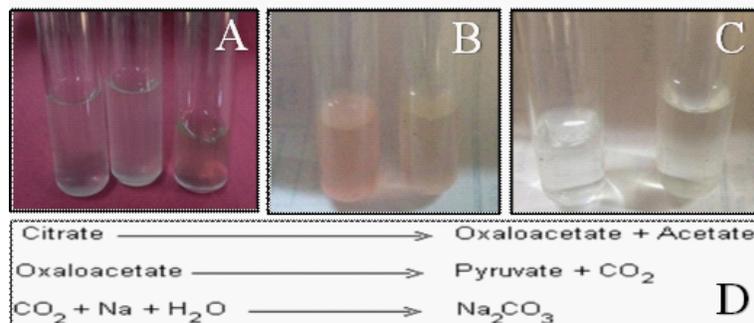


Gambar 7. Uji VP pada sampel menunjukkan hasil negatif (A), dan kontrol positif serta negatif (B). Reaksi Voges-Proskauer pada uji biokimia IMVIC (Sridhar 2006) (C).

koliform. Bakteri ini 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 koliform, E. coli, dan fekal koliform (Depkes RI 1999).

KONFIRMASI HASIL SAMPEL MAKANAN JAJANAN DI KANTIN RUMAH SAKIT X DAN KANTIN RUMAH SAKIT Y

Sampel makanan menunjukkan positif pada saat ditumbuhkan di media EMB yang ditunjukkan pada gambar 4 dengan melewati proses uji perkiraan dengan media LTB pada gambar 2 dan uji penegasan dengan media EC Broth pada gambar 3 terlebih dahulu, kemudian dilakukan pengujian biokimia untuk mengetahui positif E.coli atau tidak. Hasil uji biokimia pada sampel makanan menunjukkan bahwa negative E.coli dengan hasil uji indol negatif, uji merah



Gambar 8. Hasil uji sitrat pada sampel (A), kontrol negatif (B), dan kontrol positif (C). Reaksi sitrat pada uji biokimia IMVIC (Sridhar 2006) (D).

metil positif, uji Voges-Proskauer negatif dan uji sitrat negative. Seharusnya positif E. coli memiliki uji yang dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam dan gas, indol dan metil red positif, tidak menggunakan sitrat (Ijong & Dien 2011).

Uji makanan jajanan dari kedai atau warung makanan di kantin rumah sakit X dan rumah sakit Y telah diupayakan untuk mengambil yang diduga rentan akan bakteri, namun hasil yang pengamatan di dalam laboratorium menyatakan negatif. Hal ini dapat dikatakan bahwa kantin rumah sakit X dan kantin rumah sakit Y memiliki prinsip hygiene dan sanitasi, karena hygiene dan sanitasi memiliki keterkaitan yang sangat erat misalnya bila hygiene sudah baik karena ingin mencuci tangan namun sanitasinya tidak tersedia cukup air bersih maka mencuci tangan tidak sempurna (Depkes RI 2004).

KESIMPULAN

Sampel makanan yang diuji dari kedua lokasi rumah sakit menunjukkan negatif E.coli walaupun saat uji perkiraan dan penegasan menunjukkan adanya kemungkinan cemaran. Kemungkinan cemaran lain adalah keberadaan bakteri non-patogen Citrobacter yang dideteksi dari 1 sampel berdasarkan uji pelengkap dan biokimia. Makanan siap saji yang terdapat pada kantin rumah sakit X dan rumah sakit Y dinyatakan aman untuk dikonsumsi karena tidak mengandung bakteri E. coli. Berdasarkan hasil kuesioner yang diperoleh, sebagian besar pemilik kedai atau warung makan (diatas 94%) telah memahami prinsip hygiene dan sanitasi yang baik dalam pengolahan makanan yang akan disajikan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Balai Besar Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pemberantasan Penyakit Jakarta (BBTKLPP) yang telah mengizinkan dan memfasilitasi penulis dalam melakukan penelitian. Bapak Arief Pambudi, M.Si selaku pembimbing I yang telah memberikan arahan kepada penulis selama proses penulisan skripsi berlangsung. Ibu Yulia Fitria Ningrum selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan motivasi. Ibu Yetty selaku ketua laboratorium biologi BBTKLPP dan Ibu Yulia telah memberikan pengetahuan dan arahan kepada penulis selama proses penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifah IN. 2010. Analisis Mikrobiologi pada Makanan. [SKRIPSI]. Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Bridson EY. 2006. The Oxoid Manual 9th Edition. Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
- Depkes RI. 1990. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 416/MenKes/Per/IX/1990. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. 2003. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 942 Tahun 2003 Tentang Hygiene Sanitasi Makanan Jajanan. Jakarta: Kementerian Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2004. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomer 1204 Tentang Persyaratan Kesehatan Lingkungan Rumah Sakit. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Direktorat Jendral Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan.
- Depkes RI. 2004. Hygiene Sanitasi Makanan dan Minuman. Dirjen PPM dan PL. Jakarta.
- Depkes RI. 2010. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomer 492 Tentang Persyaratan Kualitas Air Minum. Jakarta: Kementerian Republik Indonesia.
- Depkes RI. 2011. Buku Saku Petugas Kesehatan: Lintas Diare, Lima Langkah Tuntaskan Diare. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Feng P, Weagant SD. 2002. Diarrheagenic Escherichia coli In Bacteriological analytical manual online. [Online.] U.S. Food and Drug Administration, Gaithersburg, Md. <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam./bam-toc.html>. (Diakses tanggal 14 November 2016).
- Himedia. 2011. Technical Data. <http://himedialabs.com/TD/M078.pdf>. (Diakses pada tanggal 16 November 2016).

- Ijong FG, Dien HA. 2011. Karakteristik bakteri pereduksi merkuri (*Escherichia Coli*) diisolasi dari perairan pantai teluk Manado. *Perikanan dan Kelautan Tropis*. Vol 7(3): 103-108
- Juwita U, Yuli H, Christine J. 2014. Jumlah bakteri coliform dan deteksi *Escherichia coli* pada daging ayam di Pekanbaru. *JOM FMIPA*. 1(2): 48-55
- Kataria R, Hemraj, Singh G, Jalhan S, Jindal A. 2013. Pharmacological Activities on *Glycyrrhiza Glabra*-A Review. *Asian J Pharmaceutical Clin Res*. VI(1) p5-7.
- Lal A, Cheeptham N. 2007. Eosin Methylen Blue Agar Protocol. ML Library American Society for Microbiology
- Lumantouw SF, Febby EFK, Sedy BR, Marina FOS. 2013. Isolasi dan identifikasi bakteri yang toleran terhadap fungisida mankozeb pada lahan pertanian tomat di DesaTempok, KecamatanTompasso, Sulawesi Utara. *Bios Logos*. 3(2):73-77
- Mahardika D. 2013. Pengujian Bakteri *Escherichia coli* Pada Air Sumur di Medan, Johor.[Tugas Akhir]. Analisis Farmasi dan Makanan Fakultas Farmasi. Medan: Universitas Sumatera Utara
- Marwanti. 2010. Keamanan Pangan dan Penyelenggaraan Makanan. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Ngaffi M. 2014. Kemajuan teknologi dan pola hidup dalam perspektif sosial budaya. *Jurnal Pembangunan Pendidikan: Fondasi dan Aplikasi*. 2(1): 33
- Ninie, 2005. faktor Perilaku Penjamah Makanan Pada Laik Hygiene Kantin. *Jurnal Penelitian*. <http://publichealth-journal.helpingpeopleideas.com/tag/penjamah-makanan-pada-kantin>. (Diakses tanggal 20 November 2016).
- Notoatmodjo. 2003. Meningkatkan Kualitas Pangan. Jakarta : Media Pustaka
- Pemerintah Republik Indonesia. 2001. Peraturan Pemerintah Nomor 82 tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air. Jakarta
- Prasetyo T. 2009. Pola resistensi kuman dari kultur darah di Lab mikro FKUI th 2001 – 2006 terhadap Kloramfenikol, Trimethoprim dan Tetrasiklin. [Skripsi]. FKUI: Jakarta
- Sihite R. 2000. Tourism Industry. Surabaya : SIC.
- Sridhar RPN. 2006. IMViC reaction. JJMMC. <https://www.microrao.com/micronotes/imvic.pdf>. (Di akses tanggal 20 November 2016).
- Soemarno. 2000. Isolasi dan identifikasi bakteri klinik. Yogyakarta. Akademi Analisis Kesehatan Yogyakarta Departemen Kesehatan RI.
- Sunardi. 2014. Pemeriksaan Most Probable Number (MPN) Bakteri Coliform dan Coli Tinja Pada Jamu Gendong yang Dijual di Pasar Besar Kota Palangkaraya. Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Palangkaraya: Palangkaraya.
- Tristyanto N. 2016. Buku Monograf : Uji Bakteriologi MPN Coliform dan *Escherichia Coli* Pada Air Baku Kolam Renang di Kota Malang. Jakarta: PT. Semesta Anugerah.
- Wahjuningsih E. 2001. Substrat khromogenik – fluorogenik pada uji cemaran oli dalam air. *Unitas*. 9(2): 44-56.