

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Makanan

Makanan merupakan salah satu sumber yang dikonsumsi untuk kelangsungan hidup manusia guna menjaga kesehatan, meningkatkan kecerdasan, dan produktivitas kerjanya. Dari segi kualitas selain mengandung semua zat yang diperlukan oleh tubuh, makanan juga harus memenuhi syarat keamanan. Pangan yang bermutu dan aman dapat dihasilkan dari dapur rumah tangga maupun dari industri pangan. Oleh karena itu, industri pangan adalah salah satu faktor penentu beredarnya pangan yang memenuhi standar mutu dan keamanan yang telah ditetapkan oleh pemerintah (Assidiqi dkk., 2019).

Standar kualitas makanan cukup sulit untuk didefinisikan dan tidak dapat diukur secara mekanik, dapat dievaluasi lewat nilai nutrisinya, tingkat bahan yang digunakan, rasa dan penampilan dari produk. Meskipun terdapat perbedaan pendapat mengenai pengaplikasian kriteria-kriteria tersebut pada setiap makanan (Nugroho dan Yudhastuti, 2014).

Manusia membutuhkan asupan makanan yang bergizi untuk mempertahankan hidup guna menunjang pertumbuhan dan melakukan aktivitas harian. Faktor-faktor yang mempengaruhi asupan makan seseorang adalah usia, jenis kelamin, status kesehatan, pengetahuan, pendapatan, agama dan budaya. Asupan makan harus sesuai dengan kebutuhan gizi seseorang, bila tidak terjadi kesesuaian antara makanan yang

dikonsumsi dengan kebutuhan gizi seseorang maka akan menimbulkan masalah kesehatan (Anjani dan Kartini, 2013).

2.2 Sosis

Sosis adalah salah satu bentuk olahan daging (*restructured meat*) yang dibuat dengan cara penggilingan dan penambahan bumbu serta bahan campuran lainnya, kemudian dimasukkan ke dalam selongsong panjang berupa usus hewan atau pembungkus buatan, kemudian dimasak. Proses pengolahan daging melalui tahap penggilingan dan pencampuran dengan bahan tambahan lainnya yaitu suatu bahan yang dapat mengikat (Sofiana, 2012). Bahan pengikat tersebut berfungsi untuk menarik air, memberikan warna yang khas, membentuk tekstur yang padat, memperbaiki stabilitas emulsi, menurunkan penyusutan waktu pemasakan, dan memperbaiki cita rasa (Khotimah dan Hartatie, 2013).



Gambar 2.1 Sosis (Ardiansyah, 2018).

Pembuatan awal sosis ialah dengan daging dibersihkan dari lemak lalu daging ditimbang dipotong kecil-kecil kemudian digiling dengan *food processor* dengan penambahan es batu, sodium tripoliposfat, minyak jagung, garam, tepung tapioka, susu skim, bawang putih bubuk, lada putih

bubuk, jahe bubuk, ketumbar, dan pala lalu adonan dimasukan dalam casing kemudian direbus pada suhu 60-65°C selama 60 menit (Prastini dan Widjanarko, 2015).

Sebagian besar masyarakat Indonesia menyukai sosis karena praktis dan harga yang tergolong ekonomis. Oleh karena itu, banyak industri yang memproduksi sosis baik itu bermerek maupun tidak bermerek. Sosis dapat ditemui dengan mudah di pasar tradisional dan pasar swalayan. Dengan maraknya sosis yang beredar di masyarakat tersebut membuat pemerintah menjadi lebih jeli terhadap kadar kandungan mikroba pada sosis. Batas maksimum bakteri *Escherichia coli* yang terkandung pada sosis ialah <3 APM/g (Badan Standarisasi Nasional, 2015).

2.3 *Escherichia coli*

Menurut Sutiknowati (2016), klasifikasi bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut Kingdom: Prokaryotae, Fillum: Proteobacteria, Class: Gammaproteobacteria, Ordo: Enterobacteriales, Famili: Enterobacteriaceae, Genus: *Escherichia*, Spesies: *Escherichia coli*. Bakteri ini berbentuk gram negatif, fakultatif anaerob, dan non spora. Bakteri ini memiliki karakteristik mesofilik dan mampu bertahan hidup pada berbagai kondisi baik didalam tubuh maupun di lingkungan seperti area perairan asin, tawar, dan tanah (Rahayu dkk., 2021).

Escherichia coli merupakan flora normal pada usus dan keberadaanya pada suatu pangan dapat diartikan bahwa pangan tersebut telah tercemar feses (Ekici and Dumen, 2019). Oleh karena itu, bakteri

E.coli dijadikan indikator sanitasi dan higiene pada bahan makanan salah satunya sosis. Bakteri ini umumnya bersifat komensal namun bila dalam jumlah yang banyak dapat menyebabkan sakit (Wibisono, 2015).

Patogenesis dan gejala klinis daripada infeksi bakteri *Escherichia coli* berbeda-beda serta memiliki masa inkubasi yang beragam tergantung oleh jenis patogen. Jenis patogen *Escherichia coli* diklasifikasikan berdasarkan ciri khas sifat-sifat virulensinya dan disingkat dengan akronim seperti *E.coli Enteropatogenik* (EPEC), *E.coli Enterotoksigenik* (ETEC), *E.coli Enterohemoragik* (EHEC), *E.coli Enteroinvasif* (EIEC), dan *E.coli Enteroagregatif* (EAEC) (Wibisono, 2015).



Gambar 2.2 Bakteri *Escherichia coli* (Mustofa, 2021).

Bakteri *Escherichia coli* ini memiliki keberagaman genetika dan kemampuan adaptasi yang tinggi untuk bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang beragam. Makanan beku siap saji seperti sosis yang diolah oleh industri tentunya memiliki standart keamanan pangan yang tinggi dengan ketetapan peraturan yang dibuat oleh pemerintah sehingga dapat dikonsumsi dengan aman oleh manusia. Namun ada beberapa industri yang mengelola produk sosis tidak menerapkan batas maksimum total jumlah

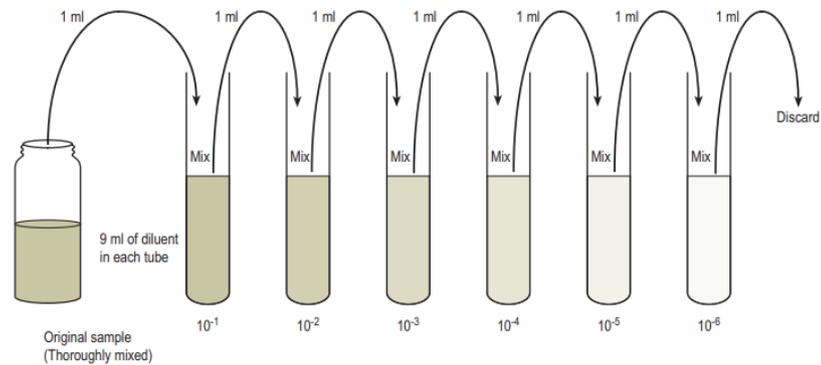
bakteri *Escherichia coli* dengan menghasilkan sosis tidak bermerek. Lingkungan penjualan sosis pada pasar tradisional dan pasar swalayan juga berpengaruh akan potensi kontaminasi bakteri *Escherichia coli* (Sultana *et al.*, 2014).

Karakteristik biokimia *Escherichia coli* ialah mampu memproduksi indol, sedikit atau tidak memfermentasi sitrat, negatif urease, non motil, dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen, tahan pada media miskin nutrisi (Rahayu dkk., 2021), positif gas, memfermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa, positif *Methyl red*, serta negatif *Voges proskauer* (Hananto dkk., 2015).

2.4 Perhitungan Total Bakteri dengan Metode TPC

Total plate count (TPC) adalah metode perhitungan sel mikroorganisme yang membentuk koloni dalam cawan petri tanpa mikroskop. Metode ini merupakan metode paling sensitif untuk menentukan jumlah mikroorganisme. TPC memiliki beberapa tahapan yakni pengenceran, penanaman, inkubasi, dan perhitungan koloni (Nurhayati, 2017).

Pengenceran dilakukan menggunakan larutan fisiologis untuk mengurangi jumlah kandungan bakteri dalam sampel sehingga dapat diamati dan dihitung jumlahnya dengan tepat dan spesifik. Setelah pengenceran dilakukan tahap penanaman bakteri pada media nutrient agar (NA) (Nurhayati, 2017).

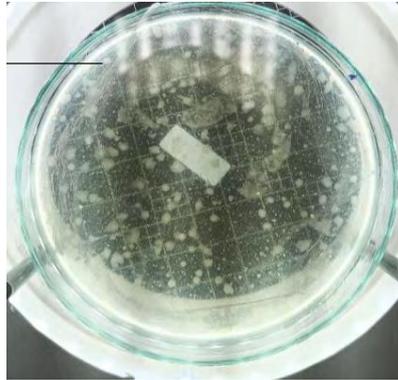


Gambar 2.3 Metode Pengenceran (Markey et al, 2013)

Terdapat beberapa macam metode penanaman bakteri yakni metode *spread plate*, *streak*, dan *pour plate*. Metode *spread plate* merupakan proses penanaman bakteri yang dilakukan dengan cara disebar dengan *spreader* pada permukaan media agar yang memiliki kelemahan bakteri anaerob tidak dapat tumbuh. Metode *streak* berfungsi untuk mendapatkan suatu koloni bakteri untuk identifikasi dan pemeriksaan biokimia. Sedangkan metode *pour plate*, proses penanaman bakteri dengan cara sampel hasil pengenceran dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian ditambahkan media pada cawan petri tersebut dengan digoyang untuk mencampur media dan sampel. Metode ini dapat menumbuhkan bakteri aerob dan anaerob. Kemudian media diinkubasikan dalam suhu dan jangka waktu tertentu, media yang digunakan adalah *nutrient agar* (Nurhayati, 2017)

Nutrient agar (NA) adalah media umum untuk pembiakan, perbanyakan, dan peremajaan bakteri (Markey et al, 2013). NA merupakan media non selektif yang mengandung NaCl, pepton, dan agar. NA biasanya digunakan untuk menumbuhkan kultur mikroorganisme heterotrof dan umum digunakan dalam prosedur bakteriologi uji air, produk pangan, dan

sampel lainnya. Selain itu NA dapat digunakan untuk peremajaan koloni bakteri yang sudah murni (Yusmaniar dkk., 2017).



Gambar 2.4 Penampakan biakan *E. coli* pada media NA (Fauzia, 2021)

Setelah media diinkubasi, dilakukan perhitungan jumlah koloni. Koloni merupakan sekumpulan organisme dengan kesamaan bentuk, susunan, permukaan, dan kesamaan sifat lainnya. Perhitungan koloni dilakukan dengan menghitung pada cawan petri dengan jumlah koloni bakteri berkisar antara 30-300 (Markey *et al*, 2013).

Adapun keuntungan dari metode TPC adalah dapat mengetahui jumlah bakteri secara keseluruhan dalam suatu sampel. Kelemahan dari metode ini adalah memungkinkan adanya jenis bakteri tertentu yang tumbuh menghalangi bakteri lain sehingga bakteri tersebut terhalang pertumbuhannya dan menjadi tidak terhitung. Perhitungan TPC dilakukan pada jumlah bakteri 30-300 koloni. Bila diatas atau dibawah jumlah tersebut maka akan menghasilkan data perhitungan yang kurang teliti (Nurhayati, 2017). Menurut Palawe dan Antahari (2018), rumus perhitungan TPC dinyatakan sebagai berikut:

$$\text{TPC} = \text{jumlah koloni pada cawan petri} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

2.5 Isolasi dan Eksplorasi Cemaran *Escherichia coli*

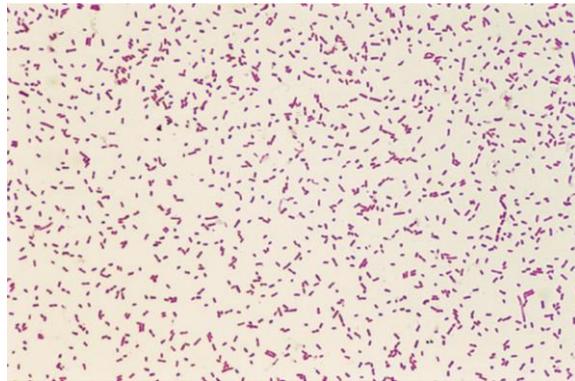
Eosin methylene blue agar (EMBA) adalah salah satu jenis media selektif yang digunakan untuk isolasi bakteri *Escherichia coli*. Media ini mengandung eosin dan pewarna biru metilen yang berfungsi menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif dan mempertajam perbedaan bakteri yang memfermentasi laktosa dan yang tidak. Apabila positif, akan terdapat warna hijau metalik pada media (Markey *et al.*, 2013).



Gambar 2.5 Media EMBA positif *E. coli* (Kartikasari dkk., 2019).

Pewarnaan gram merupakan salah satu tahapan yang dilakukan setelah ditemukan bakteri suspek. Prinsip daripada teknik pewarnaan gram ialah adanya ikatan ion antara senyawa aktif pewarna (kromogen) dengan komponen seluler bakteri. Pewarnaan gram memiliki tujuan mengidentifikasi bakteri gram positif atau negatif berdasarkan sifat fisik dan kimia dinding sel. Bakteri gram positif akan berwarna ungu karena tertahan oleh dinding peptidoglikan tebal yang mengalami penyempitan pori-pori setelah pembilasan alkohol, sedangkan bakteri gram negatif tidak

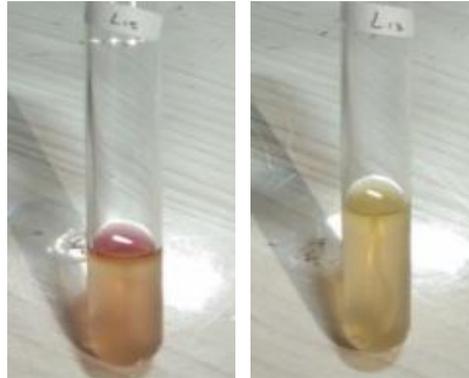
mempertahankan warna dari kristal violet sehingga akan mengambil warna terakhir yaitu safranin. Bakteri *Escherichia coli* merupakan gram negatif maka apabila dilakukan pewarnaan akan berwarna merah (Markey *et al.*, 2013).



Gambar 2.6 Pewarnaan gram bakteri *E. coli* (Markey *et al.*, 2013).

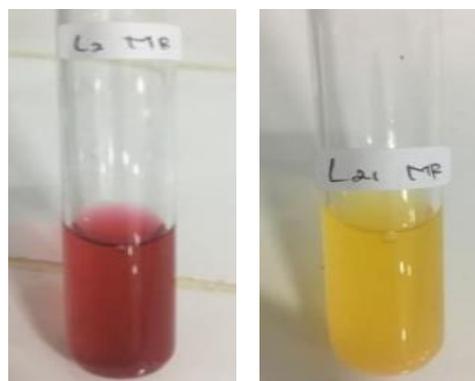
Uji biokimia adalah metode uji yang berfungsi untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* dari bakteri saluran pencernaan lainnya. Uji biokimia terdiri dari uji *Sulfite indole motility* (SIM), uji *Methyl red* (MR), uji *Voges proskauer* (VP), uji *Simmons citrate agar* (SCA), uji *Triple sugar iron agar* (TSIA), dan uji urease (Kartikasari dkk., 2019).

Uji *Sulfite indole motility* (SIM) berfungsi untuk mendeteksi bakteri yang menghasilkan enzim triptofanase yang mengkatalisasi penguraian gugus indol dari triptofan. Uji indol positif disebabkan karena bakteri menghasilkan enzim triptofanase yang berperan dalam katalisasi reaksi pengurai triptofan menjadi indol (Nurhayati, 2017).



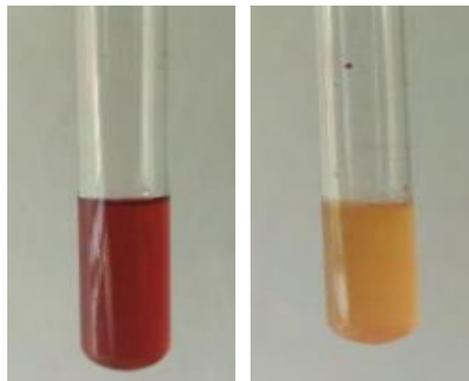
Gambar 2.7 Uji indol positif (kiri) dan negatif (kanan)
(Kartikasari dkk., 2019)

Uji *Methyl red* (MR) berfungsi untuk membedakan bakteri yang memfermentasikan glukosa. Adanya fermentasi glukosa bakteri menyebabkan penurunan pH menjadi asam (pH 5 kebawah). Uji MR positif bila media berwarna merah dan negatif jika berwarna kuning setelah penambahan reagen *Methyl red*. Hasil positif berwarna merah ini memiliki arti bahwa bakteri dapat mengubah glukosa menjadi piruvat. Warna media dari sampel isolasi bakteri setelah ditetesi reagen *Methyl red* dapat berubah warna menjadi merah akibat penurunan pH akibat aktivitas fermentasi bakteri yang menghasilkan produk yang bersifat asam (Nurhayati, 2017).



Gambar 2.8 Uji MR positif (kiri) dan negatif (kanan)
(Kartikasari dkk., 2019).

Uji *Voges proskauer* berfungsi untuk mengetahui bakteri mampu menghasilkan asetoin atau tidak. Uji ini bertujuan untuk mendeteksi kemampuan mikroba dan menghasilkan asetoin atau diasetil pada media yang mengandung fosfat, glukosa, dan pepton. Uji VP positif bila terbentuk warna merah delima dan negatif bila tidak ada perubahan warna setelah penambahan reagen 40% KOH dan 5% alpha naphthol tidak menghasilkan reaksi perubahan warna pada media yang artinya tidak terdeteksi zat asetoin yang terbentuk pada isolasi bakteri (Ijong, 2015).



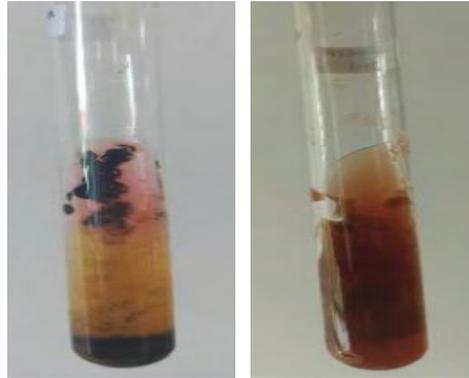
Gambar 2.9 Uji VP positif (kiri) dan negatif (kanan) (Fauzia, 2021).

Uji *Simmons citrate agar* (SCA) berfungsi untuk mengidentifikasi bakteri yang menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Bila bakteri mampu menggunakan sitrat, maka akan terjadi peningkatan pH dari asam menjadi basa. Uji sitrat positif bila terdapat perubahan warna dari hijau menjadi biru dan negatif bila tidak ada perubahan warna dan menunjukkan kekeruhan (Nurhayati, 2017).



Gambar 2.10 Uji SCA positif (kiri) dan negatif (kanan)
(Kartikasari dkk., 2019)

Uji *Triple sugar iron agar* (TSIA) merupakan metode screening yang digunakan untuk melihat kemampuan bakteri dalam memproduksi gas, H_2S , dan kemampuan fermentasi gula-gula (glukosa, laktosa, dan sukrosa). Media TSIA terdiri dari *butt* (bagian dasar) dan *slant* (bagian miring). Bila bakteri mampu memfermentasi gula-gula, maka indikator fenol merah didalam media akan mengalami perubahan warna dari merah ke kuning sebagai reaksi akibat perubahan suasana pH media dari basa menjadi asam. Apabila bagian *slant* (miring) berwarna kuning maka positif fermentasi laktosa dan sukrosa, sedangkan apabila *butt* (bawah) berwarna kuning maka positif fermentasi glukosa. Suspek bakteri positif pembentukan gas apabila media agar terangkat dan pecah, sedangkan positif H_2S tampak dari adanya endapan warna hitam (Nurhayati, 2017; Markey *et al.*, 2013).



Gambar 2.11 Uji TSIA positif (kiri) dan negatif (kanan) (Fauzia, 2021)