

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* PADA
BUBUR BAYI *HOME INDUSTRY* DI KABUPATEN
TULUNGAGUNG DENGAN METODE ALT DAN MPN**

SKRIPSI



Oleh:

IRMA RIANI

1713206015

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2021

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* PADA
BUBUR BAYI *HOME INDUSTRY* DI KABUPATEN
TULUNGAGUNG DENGAN METODE ALT DAN MPN**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi

(S.Farm)

Program Studi S1 Farmasi

STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung



Oleh:

IRMA RIANI

1713206015

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKES KARYA PUTRA BANGSA
TULUNGAGUNG**

2021

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* PADA
BUBUR BAYI *HOME INDUSTRY* DI KABUPATEN
TULUNGAGUNG DENGAN METODE ALT DAN MPN**

SKRIPSI

Yang diajukan oleh :

IRMA RIANI
1713206015

Telah disetujui oleh :



Pembimbing Utama,

Afidatul Muadifah, M. Si.

NIDN. 0708039102

Pembimbing Pendamping,

apt. Drs. Ary Kristijono, M. Farm.

NIP. 19630122

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Escherichia coli* PADA BUBUR BAYI
HOME INDUSTRY DI KABUPATEN TULUNGAGUNG DENGAN
METODE ALT DAN MPN**

SKRIPSI

Oleh :

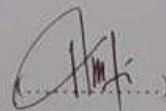
IRMA RIANI

1713206015

Telah lolos uji etik penelitian dan dipertahankan di hadapan Panitia Penguji
Skripsi Program Studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa

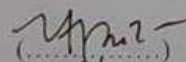
Tanggal : 21 Juli 2021

Ketua Penguji : Afidatul Muadifah, S.Si., M. Si.



(.....)

Anggota Penguji : 1. apt. Drs. Ary Kristijono, M. Farm.



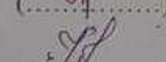
(.....)

: 2. Kartika Arum W., S. ST., M. Imun.



(.....)

: 3. Yunita Diyah S., M. Si.



(.....)

Mengetahui,
Ketua STIKes Karya Putra Bangsa

dr. Denok Sri Utami, M.H

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Tulungagung, 10 Juli 2021

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Irma Riani', written in a cursive style.

Irma Riani

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan syukur kehadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan keajaiban-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Adapun judul skripsi ini adalah “Analisis Cemaran Bakteri *Escherichia coli* Pada Bubur Bayi *Home Industry* Di Kabupaten Tulungagung Dengan Metode ALT Dan MPN”. Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat kelulusan pada program studi S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.

Penulis menyadari bahwa selama masa perkuliahan hingga penelitian dan penyusunan proposal ini telah memperoleh bantuan, bimbingan, dan motivasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. dr. Denok Sri Utami M.H selaku ketua STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
2. apt. Dara Pranidya Tilarso, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Ketua Jurusan S1 Farmasi STIKes Karya Putra Bangsa Tulungagung.
3. Afidatul Muadifah, S.Si., M.Si. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
4. apt. Drs. Ary Kristijono, M. Farm selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Kartika Arum Wardani, S.ST., M.Imun selaku penguji pada sidang skripsi.
6. Yunita Diah Safitri, M.Si selaku penguji pada sidang skripsi.
7. Keluarga saya yang telah mendukung dari awal perkuliahan baik dari segi moril maupun materil.
8. Teman-teman saya MbK Nuril, Elinda, Dina, Ika yang telah membantu saya dari awal hingga akhir penelitian ini.
9. Teman-teman angkatan 2017 yang telah berjuang bersama-sama dan membuat kenangan masa perkuliahan saya tak terlupakan.
10. Laptop saya yang sudah menemani saya mulai dari awal kuliah, meskipun banyak tragedi yang terjadi namun tetap selalu membantu saya mengerjakan skripsi ini.
11. Semua pihak yang tidak dapat saya tuliskan satu persatu, namun bantuan dan

motivasi yang sangat membantu saya untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini belum sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi perbaikan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Tulungagung, 10 Juli 2021

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'J. P. ...' with a stylized flourish at the end.

Penulis

**Analisis Cemarkan Bakteri *Escherichia coli* Pada Bubur Bayi *Home industry*
Di Kabupaten Tulungagung Dengan Metode ALT Dan MPN**

Irma Riani

Prodi S1 Farmasi, STIKes Karya Putra Bangsa, Tulungagung

INTISARI

Makanan Pendamping ASI diberikan kepada bayi yang berusia lebih dari 6 bulan karena pada waktu tersebut organ pencernaan pada bayi sudah siap untuk mencerna makanan selain ASI serta terjadi peningkatan kebutuhan gizi pada bayi namun berbanding terbalik dengan produksi ASI yang semakin menurun. Terdapat dua jenis MP-ASI yaitu tradisional dan modern. Higienitas dalam suatu produk sangat perlu diperhatikan terutama untuk makanan yang diberikan kepada bayi. Cemarkan pada makanan merupakan suatu hal yang tidak dikehendaki terdapat dalam makanan yang dimungkinkan dapat berasal dari lingkungan atau dari proses produksi makanan. Jenis cemarkan dapat berupa cemarkan kimia dan cemarkan biologis. Cemarkan biologis paling banyak dijumpai disebabkan oleh bakteri anaerob, seperti *Coliform*, *E.coli*, *Salmonella* dll. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat kesesuaian cemarkan bakteri *Escherichia coli* pada bubur bayi *home industry* yang beredar di kabupaten Tulungagung dengan SNI. Metode yang digunakan untuk pemeriksaan cemarkan bakteri pada bubur bayi adalah ALT dan MPN. Pada metode ALT digunakan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri dalam suatu sampel dan diperoleh hasil semuanya tidak memenuhi standar SNI sebesar 1×10^2 koloni/gram. Sedangkan pada metode MPN digunakan untuk mengetahui jumlah kisaran bakteri yang terdapat dalam sampel dengan terbentuknya gas yang dihasilkan oleh bakteri. Dalam metode MPN diperoleh informasi yang lebih spesifik terkait dengan bakterinya, yaitu *Escherichia coli* berdasarkan tes penegasan. Hasil dari metode MPN hanya sampel 8 yang sesuai Standar Nasional Indonesia sebesar $<3,0$ (negatif) MPN/gram.

Kata kunci : Bubur Bayi, *Escherichia coli*, Higienitas, ALT, MPN

***Analysis of Escherichia coli Bacterial Contamination in Home industry Baby
Porridge in Tulungagung District Using ALT and MPN Methods***

Irma Riani

Department of Pharmacy, STIKes Karya Putra Bangsa, Tulungagung

ABSTRACT

Complementary foods for breast milk are given to babies who are more than 6 months old because at that time the digestive organs in babies are ready to digest food other than breast milk and there is an increase in nutritional needs in infants but inversely proportional to the decreasing milk production. There are two types of complementary feeding, namely traditional and modern. Higiene in a product really needs to be considered, especially for food given to babies. Contamination in food is not desired in food that may come from the environment or the food production process. The type of contamination can be in the form of chemical contamination and biological contamination. The most common biological contaminants are caused by anaerobic bacteria, such as Coliform, E.coli, Salmonella, etc. The purpose of this study was to determine the level of conformity of Escherichia coli bacterial contamination in-home industry baby porridge circulating in Tulungagung district with SNI. The methods used to examine bacterial contamination in baby porridge are ALT and MPN. The ALT method was used to determine the number of bacterial colonies in a sample and the results obtained that all of them did not meet the SNI standard of 1×10^2 colonies/gram. While the MPN method is used to determine the number of bacterial ranges contained in the sample with the formation of gas produced by bacteria. In the MPN method, more specific information is obtained regarding the bacteria, namely Escherichia coli based on a confirmation test. The results of the MPN method are only 8 samples that match the Indonesian National Standard of <3.0 MPN/gram (negative).

Keywords: *Baby Porridge, Escherichia coli, Higiene, ALT, MPN*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
INTISARI	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Makanan Pendamping ASI.....	5
2.1.1 Syarat-Syarat MP-ASI	6
2.1.2 Prinsip-Prinsip Pemberian MP-ASI.....	7
2.1.3 Pemberian MP-ASI Pada Bayi.....	7
2.1.4 Dampak Pemberian MP-ASI yang tidak tepat.....	8
2.2 Higienitas	10
2.3 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	12
2.3.1 Morfologi <i>Escherichia coli</i>	13
2.3.2 Keuntungan dan Kerugian <i>Escherichia coli</i>	14
2.3.3 Patogenesis <i>Escherichia coli</i>	15
2.4 Diare.....	19

2.4.1	Epidemiologi Diare	20
2.4.2	Klasifikasi Diare	21
2.4.3	Patofisiologi Diare	22
2.4.4	Gambaran Klinis Diare Pada Bayi	22
2.4.5	Penatalaksanaan Diare	23
2.5	Metode Angka Lempeng Total (ALT)	23
2.6	Metode MPN (Most Probable Number)	25
2.7	Hipotesis	30
BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....		31
3.1	Alat dan Bahan.....	31
3.1.1	Alat.....	31
3.1.2	Bahan	31
3.2	Variabel Penelitian	31
3.2.1	Variabel Bebas	31
3.2.2	Variabel Kontrol	31
3.2.3	Variabel Terikat	31
3.3	Populasi dan Sampel	32
3.3.1	Populasi	32
3.3.2	Sampel	32
3.4	Cara Penelitian.....	32
3.4.1	Pewarnaan bakteri <i>Escherichia coli</i>	32
3.4.2	Angka Lempeng Total	32
3.4.3	Most Probable Number	34
3.5	Kerangka Penelitian	36
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		39
4.1	Uji Cemarkan Bakteri pada Bubur Bayi Menggunakan Metode ALT	39
4.1.1	Preparasi Sampel	40
4.1.2	Uji Cemarkan Bakteri	40
4.1.3	Perbandingan Jumlah Bakteri dengan SNI	42

4.2 Uji Cemarkan Bakteri pada Bubur Bayi Menggunakan Metode MPN	44
4.2.1 Preparasi Sampel	44
4.2.2 Uji Cemarkan Bakteri <i>Escherichia coli</i>	45
4.2.3 Perbandingan dengan SNI	49
4.3 Analisis Statistik dari ALT dan MPN	51
BAB V PENUTUP	54
5.1 Kesimpulan	54
5.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55

DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
2.1 Tanda Bayi Lapar atau Kenyang	6
2.2 Pedoman Pemberian Makan pada Bayi/Anak Usia 6-24 Bulan yang Mendapat ASI.....	8
2.3 Batas Standar Cemar Mikrobiologi dalam Makanan Pendamping ASI	9
2.4 Tabel MPN untuk 3 Seri Tabung dengan 0,1, 0,01 dan 0,001 g Inoculum dengan Interval Kepercayaan 95%	28
4.1 Hasil Pemeriksaan Bakteri pada Bubur Bayi <i>Home Industry</i> dengan Metode ALT	42
4.2 Perbandingan Hasil Perhitungan Bakteri pada Sampel Bubur Bayi <i>Home Industry</i> dengan SNI.....	43
4.3 Hasil Penelitian Bubur Bayi <i>Home Industry</i> pada Tes Perkiraan, Tes Penegasan dan Tes Pelengkap	49
4.4 Perbandingan Hasil Pemeriksaan Bubur Bayi <i>Home Industry</i> dengan SNI	50
4.5 Hasil Uji Normalitas Sampel Bubur Bayi <i>Home Industry</i>	52
4.6 Hasil Uji Homogenitas Sampel Bubur Bayi <i>Home Industry</i>	52
4.7 Hasil Uji Independent T-Test Bubur Bayi <i>Home Industry</i>	53

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
2.1 Bubur Bayi.....	5
2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	12
2.3 <i>Escherichia coli</i> Enteropatogenik (EPEC)	17
2.4 <i>Escherichia coli</i> Enterotoksigenik (ETEC)	17
2.5 <i>Escherichia coli</i> Enteroinvasif (EIEC)	18
2.6 <i>Escherichia coli</i> Enterohemoragik (EHEC)	19
2.7 <i>Escherichia coli</i> Enteroagregatif (EAEC)	19
2.8 Metode Perhitungan ALT	24
2.9 Hasil positif dengan adanya gelembung udara (kiri), hasil negatif tidak adanya gelembung udara (kanan)	29
2.10 Tabung kontrol negatif (kiri), Tabung sampel negatif (tengah), Tabung sampel positif (kanan)	29
2.11 Pertumbuhan Bakteri <i>Escherichia Coli</i> Pada Media EMBA	30
4.1 Reaksi Reduksi <i>Triphenyltetrazolium Chloride</i> (TTC) Menjadi Formazan	41
4.2 Hasil Pemeriksaan Bakteri Metode ALT.....	41
4.3 Hasil Pengujian Tes Perkiraan.....	46
4.4 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri pada Sampel Hasil Tes Perkiraan	46
4.5 Hasil Tes Penegasan pada Bubur Bayi <i>Home industry</i>	48
4.6 Hasil Tes Pelengkap Sampel Bubur Bayi <i>Home Industry</i>	48
4.7 Diagram Hasil Pemeriksaan Bubur Bayi <i>Home Industry</i> dengan Metode MPN pada Tes Penegasan	50

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal
1. Jadwal Penelitian	57
2. Surat Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>Escherichia coli</i>	58
3. Hasil Penelitian	59
4. Hasil Perhitungan Bahan	62
5. Hasil Perhitungan Metode ALT	63
6. Hasil Analisis Statistik	64

DAFTAR SINGKATAN

MP-ASI	Makanan Pendamping ASI
ASI	Air Susu Ibu
SNI	Standar Nasional Indonesia
ALT	Angka Lempeng Total
MPN	<i>Most Probable Number</i>
EC	<i>Escherichia coli</i>
EMBA	<i>Eosin Methylene Blue Agar</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Makanan pendamping ASI diberikan pada bayi berusia > 6 bulan karena pada usia tersebut bayi membutuhkan nutrisi lain selain dari ASI ataupun susu formula. Seiring dengan bertambahnya usia bayi, juga terjadi penurunan produksi ASI yang menyebabkan tidak terpenuhinya suplai zat gizi untuk kebutuhan perkembangan bayi yang semakin meningkat sehingga pemberian dalam bentuk makanan pelengkap sangat dianjurkan (Ardhianditto et al., 2013)

Pada periode 6 bulan sampai 24 bulan terjadi perubahan kebutuhan energi dari ASI eksklusif ke makanan pendamping ASI, sebab pada periode ini sangat sensitif untuk terjadinya malnutrisi pada anak. Nilai gizi dari makanan pendamping ASI harus memenuhi kecukupan gizi yang diperlukan oleh bayi untuk pertumbuhannya. Serta memiliki rasa yang disukai oleh bayi, bentuk atau tekstur yang sesuai agar mudah untuk ditelan dan bersih tidak tercemar oleh bakteri patogen (Ardhianditto et al., 2013).

Jenis makanan pendamping ASI terbagi menjadi dua, yakni MP-ASI tradisional dan MP-ASI modern (pabrik). MP-ASI tradisional dapat dijumpai pada suatu tempat saja dan tidak dapat bertahan lama, karena makanan yang dijual sudah dalam bentuk matang. Sedangkan MP-ASI modern merupakan produk makanan bayi yang dihasilkan oleh pabrik seperti bubur bayi instan, biskuit, puding dan lain-lain. Kelebihan dari MP-ASI modern yakni praktis dan mudah dalam penyajiannya, namun perlu diperhatikan kandungan gizi dan bahan yang tertera pada produk yang dijual (Elvizahro, 2011).

Emansipasi wanita yang digagas oleh Ibu Kartini membuat semakin banyak wanita yang bekerja di luar rumah, sehingga membuat waktu untuk mengurus keluarga dan rumah menjadi berkurang. Hal tersebut membuat para wanita atau khususnya ibu rumah tangga yang juga bekerja, lebih memilih cara

yang instan dari pada harus membuat makanan untuk bayinya sendiri. Oleh sebab itu, membuka peluang usaha bagi para penjual bubur bayi.

Para penjual bubur bayi *home industry* biasa menjajakan dagangannya di pinggir jalan raya atau di tempat yang ramai seperti di pasar, yang mudah untuk dijangkau oleh pembeli. Meskipun juga banyak pabrik yang telah mengeluarkan produk bubur bayi instan, namun tidak menyurutkan peminat atau pembeli dari bubur bayi *home industry*. Harga yang terjangkau juga menjadi salah satu faktor pendukung masyarakat untuk membeli bubur bayi *home industry*.

Terutama di Kabupaten Tulungagung, sangat banyak penjual bubur bayi dengan berbagai variasi rasa dan dari outlet yang berbeda juga. Masing-masing outlet memiliki cara tersendiri untuk membuat atau memilih bahan makanan yang digunakan. Namun masih diperlukan pengkajian apakah bubur bayi yang dibuat sudah sesuai dengan standar dan aman untuk dikonsumsi.

Dalam suatu proses produksi makanan diperlukan adanya hygiene dan sanitasi agar terhindar dari pencemaran oleh bakteri maupun logam berat yang dapat berpengaruh terhadap kesehatan jika dikonsumsi dalam kadar tertentu. Terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan yaitu pemilihan dan penyimpanan bahan makanan, pengolahan makanan, penyimpanan makanan yang sudah jadi, pendistribusian, dan penyajian makanan (Rahmadhani & Sumarmi, 2017)

Cemaran pada makanan merupakan suatu hal yang tidak dikehendaki terdapat dalam makanan yang dimungkinkan dapat berasal dari lingkungan atau dari proses produksi makanan. Jenis cemaran dapat berupa cemaran kimia dan cemaran biologis. Cemaran biologis paling banyak dijumpai disebabkan oleh bakteri anaerob, seperti *Coliform*, *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalli*, *Vibrio*, dan sebagainya (BPOM, 2012)

Escherichia coli merupakan salah satu bakteri patogen, termasuk bakteri gram negatif yang berbentuk batang pendek atau kokobasil dengan ukuran $0,4 \mu\text{m} - 0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$. Terdapat strain *Escherichia coli* yang patogen dan non patogen. *Escherichia coli* non patogen banyak dijumpai dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Serta berperan dalam pencernaan makanan dengan menghasilkan vitamin K dari bahan yang belum dicerna dalam usus besar. Sedangkan strain

patogen *Escherichia coli* salah satu contohnya yaitu jenis Enteropathogenic *Escherichia coli* yang mudah mencemari makanan dan dapat menyebabkan diare pada bayi dan anak-anak di negara yang sedang berkembang (BPOM, 2012).

Diare ditandai dengan perubahan bentuk dari tinja yang melembek hingga terdapat lendir dan darah, Serta bertambahnya frekuensi buang air besar menjadi 3 kali atau lebih dalam 1 hari. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Zakia dkk (2015) pada anak usia 3 bulan sampai dengan usia 7 tahun yang menderita diare terdapat bakteri *Escherichia coli* pada fesesnya.

Alasan utama dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui ke higienisan dari bubur bayi. Salah satu indikator yang dapat digunakan untuk menilai ke higienisan yakni dengan mengetahui ada tidaknya kandungan bakteri *Escherichia coli*. Kandungan *Escherichia coli* yang berlebihan dalam tubuh dapat menyebabkan penyakit salah satunya adalah diare. Sehingga penulis ingin menganalisis cemaran biologis (*Escherichia coli*) pada bubur bayi *home industry* yang beredar di kabupaten Tulungagung.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat cemaran bakteri pada bubur bayi *home industry* yang dianalisis dengan metode ALT?
2. Apakah terdapat cemaran bakteri patogen *Escherichia coli* pada bubur bayi *home industry* yang dianalisis dengan metode MPN?
3. Apakah cemaran bakteri patogen *Escherichia coli* pada bubur bayi sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah terdapat cemaran bakteri pada bubur bayi *home industry* yang dianalisis dengan metode ALT.
2. Untuk mengetahui apakah terdapat cemaran bakteri patogen *Escherichia coli* pada bubur bayi *home industry* yang dianalisis dengan metode MPN.
3. Untuk mengetahui apakah cemaran bakteri patogen *Escherichia coli* pada bubur bayi sesuai dengan Standar Nasional Indonesia.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Untuk menambah pengetahuan dan ketrampilan peneliti dalam bidang kimia khususnya dalam analisis cemaran bakteri *Escherichia coli* pada bubur bayi.

2. Bagi Masyarakat

Agar masyarakat mendapatkan informasi tentang higienitas bubur bayi *home industry* yang dijual di kabupaten Tulungagung. Serta memberikan edukasi agar lebih selektif dalam memberikan makanan terhadap bayinya.

3. Bagi Mahasiswa

Dapat dijadikan acuan bagi mahasiswa yang ingin membuat penelitian lebih lanjut.

4. Bagi Lembaga

Dapat digunakan untuk referensi oleh civitas akademika jika ingin membuat penelitian lebih lanjut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI)



Gambar 2.1 Bubur Bayi (Putri, 2019)

Makanan pendamping ASI dapat didefinisikan sebagai makanan atau minuman selain ASI yang mengandung nutrient baik untuk bayi yang diberikan selama periode pemberian makanan peralihan (*complementary feeding*) yaitu pada saat makanan atau minuman lain diberikan bersama pemberian ASI. Pengenalan dan pemberian MP-ASI harus dilakukan secara bertahap baik bentuk maupun jumlah. Hal tersebut bertujuan untuk menyesuaikan kemampuan alat pencernaan bayi dalam menerima MP-ASI (Ardhianditto et al., 2013).

Makanan pendamping ASI ialah makanan yang diberikan selain ASI kepada bayi berusia 6 bulan ke atas untuk memenuhi kebutuhan gizinya (Farida et al., 2016). Pada usia 6 bulan sampai 24 bulan dianjurkan untuk diberikan makanan pendamping ASI, sebab pada masa tersebut produksi ASI mulai menurun sehingga suplai gizi dari ASI tidak lagi memenuhi kebutuhan gizi untuk tumbuh kembang bayi (Ardhianditto et al., 2013).

Pada usia 6 bulan bayi mampu menunjukkan keinginan makan dengan cara membuka mulutnya karena timbul rasa lapar dengan ciri memajukan tubuhnya ke depan atau ke arah makanan. Sedangkan jika tidak berminat atau kenyang dengan ciri bayi cenderung menarik tubuh ke belakang/menjauh.

Tabel 2.1 Tanda bayi lapar atau kenyang (Tarigan, 2015)

Lapar	Kenyang
1. Riang/antusias sewaktu didudukkan di kursi makannya	1. Memalingkan muka/ menutup mulut ketika melihat sendok berisi makanan
2. Gerakan menghisap atau mencecapkan bibir	2. Menutup mulut dengan tangannya
3. Membuka mulut ketika melihat sendok/makanan	3. Rewel atau menangis karena terus diberi makan
4. Memasukkan tangan ke dalam mulut	4. Tertidur
5. Menangis atau rewel karena ingin makan	
6. Mencondongkan tubuh ke arah makanan atau berusaha menjangkaunya	

2.1.1 Syarat-Syarat MP-ASI

Pada Global Strategy for Infant and Young Child Feeding dinyatakan bahwa MP-ASI harus memenuhi syarat-syarat berikut (World Health Organization, 2001)

:

1. Tepat waktu (Timely) : MP-ASI mulai diberikan saat kebutuhan energi dan nutrien melebihi yang didapat dari ASI.
2. Adekuat (Adequate) : MP-ASI harus mengandung cukup energi, protein, dan mikronutrien.
3. Aman (Safe) : Penyimpanan, penyiapan dan sewaktu diberikan, MP-ASI harus higienis.
4. Tepat cara pemberian (Properly) : MP-ASI diberikan sejalan dengan tanda lapar dan nafsu makan yang ditunjukkan bayi serta frekuensi dan cara pemberiannya sesuai dengan usia bayi.

2.1.2 Prinsip-Prinsip Pemberian MP-ASI

Global Strategy for Infant and Young Child Feeding mengeluarkan prinsip tentang pemberian MP-ASI pada bayi dengan ASI (World Health Organization, 2001) :

1. ASI eksklusif diberikan sejak lahir sampai usia 6 bulan, selanjutnya ditambahkan MP-ASI mulai usia 6 bulan (180 hari) sementara ASI diteruskan.
2. Dilanjutkan ASI hingga usia 2 tahun atau lebih.
3. Dilakukan *responsive feeding* dengan menerapkan prinsip asuhan psikososial.
4. Menerapkan perilaku hidup bersih dan higienis serta penanganan makanan yang baik dan tepat.
5. Pemberian MP-ASI pada usia 6 bulan dimulai dengan jumlah sedikit, bertahap dinaikkan sesuai usia bayi, sementara ASI tetap sering diberikan.
6. MP-ASI diberikan secara bertahap dan konsisten serta variasi ditambah sesuai kebutuhan dan kemampuan bayi.
7. Frekuensi pemberian MP-ASI semakin sering sejalan dengan bertambahnya usia bayi.
8. Diberikan variasi makanan yang kaya akan nutrisi untuk memastikan bahwa seluruh kebutuhan nutrisi terpenuhi.
9. Dipilih MP-ASI yang mengandung banyak vitamin-mineral atau dapat diberikan tambahan suplemen makanan bila perlu.
10. Ditambahkan asupan cairan saat anak sakit, termasuk lebih sering pemberian ASI, dan mendorong anak untuk makan makanan lunak dan yang disukainya. Setelah sembuh, diberi makan lebih sering dan lebih banyak.

2.1.3 Pemberian MP-ASI Pada Bayi

Pengenalan tekstur dan konsistensi makanan dilakukan secara bertahap, demikian pula dengan frekuensi dan jumlah makanan yang diberikan. Pemberian MP-ASI dimulai dengan tekstur yang lembut/halus dan konsistensi yang encer, selanjutnya secara bertahap tekstur dan konsistensinya ditingkatkan menjadi

semakin kental sampai padat dan kasar. Dimulai dengan jumlah sedikit (1-2 sdt) pada saat pengenalan makanan dan kemudian ditingkatkan sampai jumlah yang sesuai usia. Perkenalan jenis makanan sangat penting agar bayi dapat mengenali rasa dan aroma setiap jenis makanan baru. Makanan baru sebaiknya diberikan pada pagi hari agar ada cukup waktu bila ada reaksi yang tidak diharapkan atau alergi. Kebersihan makanan maupun alat yang digunakan juga harus diperhatikan dengan cara mencuci makanan dan semua peralatan sebelum digunakan.

Tabel 2.2 Pedoman pemberian makan pada bayi/anak usia 6-24 bulan yang mendapat ASI (Tarigan, 2015)

Umur	Tekstur	Frekuensi	Jumlah rata-rata/kali makan
6-8 bulan	Dimulai dengan bubur halus, lembut, cukup kental, dilanjutkan bertahap menjadi lebih kasar	2-3x/hari, ASI tetap sering diberikan. Tergantung nafsu makannya, dapat diberikan 1-2x selingan	Dimulai dengan 2-3 sdm/kali ditingkatkan bertahap sampai ½ mangkok (=125 ml)
9-11 bulan	Makanan yang dicincang halus atau disaring kasar, ditingkatkan semakin kasar sampai makanan biasa dipegang/diambil dengan tangan	3-4x/hari, ASI tetap diberikan. Tergantung nafsu makannya, dapat diberikan 1-2x selingan	½ mangkok (=125ml)
12-24 bulan	Makanan keluarga, bila perlu masih dicincang atau disaring kasar	3-4xhari. ASI tetap diberikan. Tergantung nafsu makannya, dapat diberikan 1-2x selingan	¾ sampai 1 mangkok (175-250ml)

2.1.4 Dampak Pemberian MP-ASI yang tidak tepat

Pemberian makanan pendamping ASI yang tidak tepat waktu, terlalu dini atau terlambat diberikan dapat mengakibatkan hal-hal yang merugikan. Waktu yang baik dalam memulai pemberian MP-ASI pada bayi adalah umur 6 bulan. Pemberian MP-ASI pada bayi sebelum umur 6 bulan akan menimbulkan resiko sebagai berikut:

1. Rusaknya sistem pencernaan yang disebabkan oleh perkembangan usus bayi dan pembentukan enzim yang dibutuhkan untuk pencernaan masih belum sempurna karena proses perkembangan organ pencernaan hingga

dapat mencerna makanan memerlukan waktu 6 bulan. Sebelum sampai pada usia ini, ginjal juga belum cukup berkembang untuk dapat menguraikan sisa yang dihasilkan oleh makanan padat.

2. Tersedak disebabkan karena koordinasi syaraf otot (*neuromuscular*) bayi belum cukup berkembang untuk mengendalikan gerak kepala dan leher ketika duduk dikursi. Jadi, bayi masih sulit menelan makanan dengan menggerakkan makanan dari bagian depan ke bagian belakang mulutnya, karena gerakan ini melibatkan susunan refleks yang berbeda dengan minum susu.
3. Meningkatkan resiko terjadinya alergi seperti asma, demam tinggi , penyakit seliak atau alergi gluten (protein dalam gandum).

Tabel 2.3 Batas Standar Cemaran Mikrobiologi Dalam Makanan Pendamping ASI (SNI, 2009)

No. Kat Pangan	Kategori pangan	Jenis Mikroba	Cemaran	Batas Maksimum	
13.2	Makanan komplemen untuk bayi dan anak kecil	Biskuit untuk bayi dan balita, MPASI biskuit	ALT (30°C, 72 jam)	1 x 10 ⁴ koloni/g	
			MPN Koliform	< 20/g	
			MPN <i>Escherichia coli</i>	Negatif/g	
			<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/25 g	
			<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 ² koloni/g	
			MPASI siap santap	ALT (30°C, 72 jam)	1 x 10 ² koloni/g
		MPASI siap santap	MPN Koliform	< 3/g	
			MPN <i>Escherichia coli</i>	Negatif/g	
			<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/25 g	
			<i>Staphylococcus aureus</i>	Negatif/g	
			MPASI bubuk instan	ALT (30°C, 72 jam)	1 x 10 ⁴ koloni/g
				MPN Koliform	< 20/g
		MPN <i>Escherichia coli</i>		Negatif/g	
		<i>Salmonella sp.</i>		Negatif/25 g	
		<i>Staphylococcus aureus</i>		1 x 10 ² koloni/g	

2.2 Higienitas

Higiene (berasal dari nama dewi kesehatan Yunani, Hygieia) biasa diartikan sebagai “kebersihan”, tetapi dalam arti luas higiene mencakup semua keadaan dan praktek, pola hidup, kondisi tempat dan lain sebagainya di sepanjang rantai produksi, yang diperlukan untuk menjamin keamanan pangan (Surono dkk, 2016). Dalam pengertian tersebut terkandung makna higiene erat hubungannya dengan perorangan, makanan dan minuman karena merupakan syarat untuk mencapai derajat kesehatan manusia. Dalam hal ini sebagai penjamah makanan harus memperhatikan keadaan pribadi dan praktik, serta pola hidupnya agar terkondisi sehat sehingga tidak membahayakan makanan yang diproduksinya.

Menurut Brownell dalam Rejeki (2015), higiene adalah bagaimana caranya orang memelihara dan melindungi kesehatan. Penjamah makanan yang hendak bersentuhan langsung dengan makanan tentu harus dalam kondisi bersih dan sehat sehingga tidak terjadi penyebaran penyakit. Sebab penjamah makanan merupakan pihak yang terkontak langsung dengan makanan akan konsumsi. Penjamah makanan bisa menyebarkan bakteri patogen ke makanan melalui tangannya. Selain itu, tubuh manusia merupakan tempat berkembangbiaknya bakteri penyebab penyakit, seperti rambut, hidung, telinga, dan mulut. Bakteri juga sering menjadi faktor penyebab terjadinya keracunan makanan.

Mengingat manusia merupakan salah satu mata rantai dalam penyebaran penyakit pemahaman mengenai higiene, terutama higiene perorangan (personal hygiene) amatlah penting. Hal tersebut seperti yang dikatakan oleh Bartono & Ruffino (2006) bahwa mengesampingkan kebersihan dan higiene akan menimbulkan masalah, yaitu keracunan makanan. Padahal higiene ini dimaksudkan untuk menjamin kesehatan. Metode yang digunakan sudah baik akan tetapi mengabaikan masalah higiene makanan, peralatan, dan higiene lingkungan bisa berakibat fatal dan tentunya akan membahayakan konsumen.

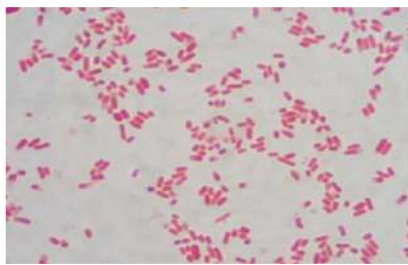
Kasus keracunan pangan paling umum terjadi disebabkan oleh bakteri sehingga tindakan higiene yang keras harus dilakukan untuk menghindari munculnya penyakit tipe tersebut. Menurut Indraswati (2016) ada beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya keracunan makanan, yaitu sebagai berikut.

1. Tidak memperhatikan prinsip sanitasi higiene makanan dari pemilihan bahan makanan hingga penyajian makanan.
2. Adanya mikroorganisme penyebab keracunan makanan. Berdasarkan mekanisme kejadian dan bakteri penyebabnya maka keracunan makanan dibedakan menjadi dua tipe, yaitu tipe infeksi (disebabkan oleh *Vibrio parahaemolyticus*, *Salmonella* spp, *Escherichia coli* pathogen, dan lain-lain) dan tipe intoksikasi (disebabkan oleh *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, dan *Bacillus aureus*).
3. Adanya bahan kimia yang terkandung dalam makanan, seperti penambahan bahan tambahan makanan dan penggunaan pestisida atau insektisida yang tidak tepat.
4. Adanya jamur yang menyebabkan keracunan makanan. Disebabkan oleh konsumsi bahan makanan atau tanaman yang mengandung substansi racun.

Menurut Sucipto (2015) secara garis besar higiene perorangan itu meliputi kebersihan diri sendiri, menjaga kesehatan dengan cara mengatur waktu kerja dan istirahat serta rekreasi/olahraga, mencegah perilaku-perilaku yang dapat menimbulkan pencemaran makanan, dan hubungan baik antar manusia khususnya dalam bidang bisnis makanan agar dihindarkan adanya cara-cara persaingan yang tidak sehat.

2.3 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli pertama kali diidentifikasi oleh dokter hewan Jerman, Theodor Escherich dalam studinya mengenai sistem pencernaan pada bayi hewan. Pada 1885, beliau menggambarkan organisme ini sebagai komunitas bakteri coli (Escherich, 1885) dengan membangun segala perlengkapan patogenitasnya di infeksi saluran pencernaan. Nama "*Bacterium coli*" sering digunakan sampai pada tahun 1991. Ketika Castellani dan Chalames menemukan genus *Escherichia* dan menyusun tipe spesies *EC*.



Gambar 2.2 Bakteri *Escherichia coli* (Oktaviani, 2014)

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli*

E.coli merupakan bakteri anaerob fakultatif, dimana bakteri yang dapat hidup tanpa oksigen secara mutlak atau dapat hidup tanpa adanya oksigen, didalam kondisi ini bakteri tersebut aktif, yang memanfaatkan senyawa organik sebagai media tumbuhnya.

EC (Escherichia coli) adalah bakteri yang biasanya hidup di usus hewan, termasuk manusia. Bahkan, kehadiran *EC* dan jenis lain dari bakteri dalam usus kita perlu untuk membantu tubuh manusia berkembang dengan baik dan tetap sehat. Ada sekitar 100 strain *EC*, sebagian besar yang bermanfaat.

Bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan terjadinya epidemik penyakit-penyakit saluran pencernaan makanan seperti kolera, tifus, disentri, diare dan

penyakit caceng. Bibit penyakit ini berasal dari feses manusia yang menderita penyakit-penyakit tersebut. Indikator yang menunjukkan bahwa air rumah tangga sudah dikotori feses adalah dengan adanya *Escherichia coli* dalam air tersebut karena dalam feses manusia baik dalam keadaan sakit maupun sehat terdapat bakteri ini dalam tubuhnya.

2.3.1 Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. Bentuk sel seperti coocal hingga membentuk sepanjang ukuran filamentous. Tidak ditemukan spora. Selnya bisa terdapat tunggal, berpasangan, dan dalam rantai pendek, biasanya tidak berkapsul. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz et al., 1995).

Kapsula atau mikrokapsula terbuat dari asam-asam polisakarida. Mukoid kadang-kadang memproduksi pembuangan ekstraselular yang tidak lain adalah sebuah polisakarida dari spesifitas antigen K tertentu atau terdapat pada asam polisakarida yang dibentuk oleh banyak *Escherichia coli* seperti pada Enterobacteriaceae. Selanjutnya digambarkan sebagai antigen M dan dikomposisikan oleh asam kolanik (Smith-Keary, 1988).

Biasanya sel ini bergerak dengan flagella petrichous. *Escherichia coli* memproduksi macam-macam fimbria atau pili yang berbeda, banyak macamnya pada struktur dan spesifitas antigen, antara lain filamentus, proteinaceus, seperti rambut appendages di sekeliling sel dalam variasi jumlah. Fimbria merupakan rangkaian hidrofobik dan mempunyai pengaruh panas atau organ spesifik yang bersifat adhesi. Hal itu merupakan faktor virulensi yang penting. *Escherichia coli* merupakan bakteri fakultatif anaerob, kemoorganotropik, mempunyai tipe metabolisme fermentasi dan respirasi tetapi pertumbuhannya paling sedikit banyak di bawah keadaan anaerob (Collier, 1998).

Pertumbuhan yang baik pada suhu optimal 37⁰C pada media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen. *Escherichia coli*

memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air. *Escherichia coli* berbentuk sirkular, konveks dan koloni tidak berpigmen pada nutrient dan media darah. *Escherichia coli* dapat bertahan hingga suhu 60°C selama 15 menit atau pada suhu 55°C selama 60 menit. *Escherichia coli* tumbuh baik pada temperatur antara 8°-46°C dan temperatur optimum 37°C. Bakteri yang dipelihara di bawah temperatur minimum atau sedikit di atas temperatur maksimum, tidak akan segera mati melainkan berada di dalam keadaan tidur atau dormansi (Melliawati, 2009).

Pada umumnya bakteri *Escherichia coli* hanya mengenal satu macam pembiakan yaitu dengan cara seksual atau vegetatif. pembiakan ini berlangsung cepat, apabila faktor-faktor luar menguntungkan bagi dirinya. Apabila faktor-faktor luar menguntungkan, maka setelah terjadi pembelahan, sel-sel baru tersebut akan membesar sampai masing-masing menjadi sebesar sel induknya (Melliawati, 2009).

Kehidupan bakteri tidak hanya dipengaruhi oleh faktor-faktor luar tetapi sebaliknya bakteri mampu mempengaruhi keadaan lingkungannya, misalnya dapat menyebabkan demam (panas) akibat terinfeksi oleh bakteri *Escherichia coli* yang ada dalam saluran pencernaan dan menyebabkan diare yang berkepanjangan. Jika *Escherichia coli* berada dalam medium yang mengandung sumber karbon (glukosa, laktosa, dsb) maka akan mengubah derajat asam (pH) dalam medium menjadi asam dan akan membentuk gas sebagai hasil proses terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Melliawati, 2009).

2.3.2 Keuntungan dan Kerugian *Escherichia coli*

Di dalam lingkungan dan kehidupan kita, bakteri *Escherichia coli* banyak dimanfaatkan di berbagai bidang, baik pertanian, peternakan, kedokteran maupun dikalangan industri. Dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, *Escherichia coli* telah banyak diketahui baik sifat morfologi, fisiologi maupun pemetaan DNANYa, sehingga bakteri ini dipakai untuk menyimpan untaian DNA yang dianggap potensial, baik dari tanaman, hewan maupun mikroorganisme dan sekaligus untuk perbanyakannya. Dengan diketahuinya bahwa *Escherichia coli* dapat dipakai untuk menyimpan untaian DNA yang potensial, maka hal ini membuka kesempatan untuk

mempelajari sifat dan karakter dari mikroba lain yang tentunya memberikan dampak yang positif untuk kemajuan di bidang kedokteran, pertanian maupun industri. Di bidang pertanian telah dilaporkan bahwa beberapa tanaman tidak tahan terhadap suatu penyakit atau serangan hama, namun bantuan *Escherichia coli* sebagai inang yang membawa gen yang tahan terhadap penyakit atau hama tertentu, maka hal itu dapat diatasi sehingga perkembangan di bidang pertanian tidak terhambat (Melliawati, 2009).

Escherichia coli adalah anggota flora normal usus, menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri usus yang patogenik. *Escherichia coli* berperan penting dalam sintesis vitamin K, konversi pigmen-pigmen empedu, asam-asam empedu dan penyerapan zat-zat makanan. *Escherichia coli* termasuk ke dalam bakteri heterotrof yang memperoleh makanan berupa zat organik dari lingkungannya karena tidak dapat menyusun sendiri zat organik yang dibutuhkannya. Zat organik diperoleh dari sisa organisme lain. Bakteri ini menguraikan zat organik dalam makanan menjadi zat anorganik, yaitu CO₂, H₂O, energi, dan mineral. Di dalam lingkungan, bakteri pembusuk ini berfungsi sebagai pengurai dan penyedia nutrisi bagi tumbuhan (Ganiswarna, 1995).

Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* disamping dapat membantu untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan juga dimanfaatkan di berbagai bidang ilmu, bakteri *Escherichia coli* juga dapat membahayakan kesehatan. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. Manifestasi klinik infeksi oleh *Escherichia coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Jawetz et al., 1995).

2.3.3 Patogenesis

Bakteri EC adalah salah satu bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya kontaminasi feces dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, dan minuman. EC menjadi patogen jika jumlah bakteri dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, menghasilkan enterotoksin sehingga menyebabkan terjadinya beberapa infeksi yang berasosiasi dengan

enteropatogenik kemudian menghasilkan enterotoksin pada sel epitel. Manifestasi klinik infeksi oleh EC bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Ismail, 2012).

Escherichia coli yang menyebabkan diare sangat sering ditemukan di seluruh dunia. *Escherichia coli* ini diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-sifat virulensinya dan setiap grup menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda. Secara garis besar, Berbagai jalur *Escherichia coli* menyebabkan diare dengan salah satu dari dua mekanisme yakni :

1. *Escherichia coli* yang memproduksi enterotoksin, disebut *Escherichia coli* enterotoksigen, memproduksi salah satu atau kedua toksin yang berbeda. Satu adalah toksin yang tahan panas (ST) dan toksin yang labil terhadap panas (LT). Toksin LT menyebabkan peningkatan aktifitas enzim adenil siklase dalam sel mukosa usus halus dan merangsang sekresi cairan, kekuatannya 100 kali lebih rendah dibandingkan toksin kolera dalam menimbulkan diare. Toksin ST tidak merangsang aktifitas enzim adenil siklase. Bekerja dengan cara mengaktivasi enzim guanilat siklase menghasilkan siklik guanosin monofosfat, menyebabkan gangguan absorpsi klorida dan natrium, selain itu menurunkan motilitas usus halus.
2. *Escherichia coli* yang menimbulkan diare dengan invasi langsung lapisan epitelium dinding usus. Ketika invasi lapisan usus terjadi, penyakit diare terjadi karena pengaruh racun lipopolisakarida dinding sel (endotoksin) (Michael, 2000).

Escherichia coli patogen dapat mensekresikan beberapa faktor adherence sehingga mampu menempel pada tempat steril, seperti usus halus. Faktor adherence ini kemudian membentuk suatu struktur yang berbeda yang disebut fimbriae. Fimbriae ini berbeda dengan flagela yang dimiliki bakteri *Escherichia coli* non patogen. *Escherichia coli* patogen juga mensekresikan toksin dan protein lain yang mempengaruhi proses metabolik dasar sel eukariotik (Kaper, 2004).

Ada lima kelompok jalur patogenitas *Escherichia coli* yang berhasil diidentifikasi sehingga menyebabkan diare, yaitu :

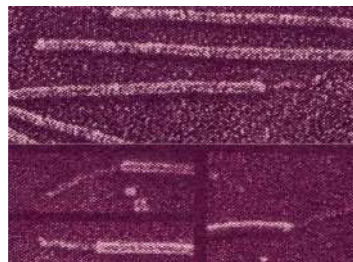
1. *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC)



Gambar 2.3 *Escherichia coli* Enteropatogenik (EPEC) (Oktaviani, 2014)

EPEC penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC sebelumnya dikaitkan dengan wabah diare pada anak-anak di negara maju. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil. Faktor yang diperantarai secara kromosom menimbulkan pelekatan yang kuat. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare cair yang biasanya sembuh sendiri tetapi dapat juga kronik. Lamanya diare EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik. Diare terjadi pada manusia, kelinci, anjing, kucing dan kuda. Seperti ETEC, EPEC juga menyebabkan diare tetapi mekanisme molekular dari kolonisasi dan etiologi adalah berbeda. EPEC sedikit fimbria, ST dan LT toksin, tetapi EPEC menggunakan adhesin yang dikenal sebagai intimin untuk mengikat inang sel usus. Sel EPEC invasif (jika memasuki sel inang) dan menyebabkan radang (Nurmila & Kusdiyantini, 2018).

2. *Escherichia coli* Enterotoksigenik (ETEC)



Gambar 2.4 *Escherichia coli* Enterotoksigenik (ETEC) (Oktaviani, 2014)

ETEC penyebab yang sering dari “diare wisatawan” dan penyebab diare pada bayi di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Lumen usus terengang oleh cairan dan mengakibatkan hipermotilitas serta diare, dan berlangsung selama beberapa hari. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotosin

tidak tahan panas. Profilaksis antimikroba dapat efektif tetapi bisa menimbulkan peningkatan resistensi antibiotik pada bakteri, mungkin sebaiknya tidak dianjurkan secara umum. Ketika timbul diare, pemberian antibiotik dapat secara efektif mempersingkat lamanya penyakit. Diare tanpa disertai demam ini terjadi pada manusia, babi, domba, kambing, kuda, anjing, dan sapi. ETEC menggunakan fimbrial adhesi (penonjolan dari dinding sel bakteri) untuk mengikat sel-sel enterosit di usus halus. ETEC dapat memproduksi 2 proteinous enterotoksin : dua protein yang lebih besar, LT enterotoksin sama pada struktur dan fungsi toksin kolera hanya lebih kecil, ST enterotoksin menyebabkan akumulasi cGMP pada sel target dan elektrolit dan cairan sekresi berikutnya ke lumen usus. ETEC strains tidak invasive dan tidak tinggal pada lumen usus (Nurmila & Kusdiyantini, 2018).

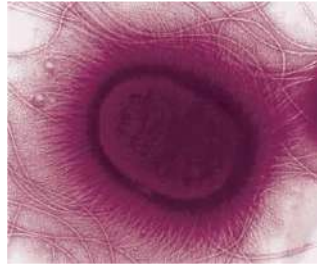
3. *Escherichia coli* Enteroinvasif (EIEC)



Gambar 2.5 *Escherichia coli* Enteroinvasif (EIEC) (Oktaviani, 2014)

EIEC menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit yang paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut. Jalur EIEC bersifat non-laktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat tidak dapat bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus. Diare ini ditemukan hanya pada manusia (Nurmila & Kusdiyantini, 2018).

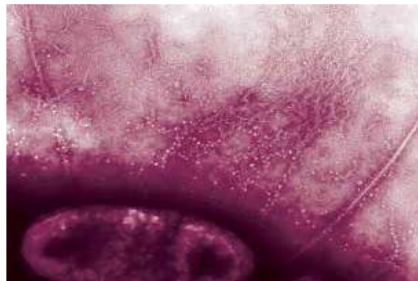
4. *Escherichia coli* Enterohemoragik (EHEC)



Gambar 2.6 *Escherichia coli* Enterohemoragik (EHEC) (Oktaviani, 2014)

Menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksinya pada sel Vero, suatu sel hijau dari monyet hijau Afrika. Terdapat sedikitnya dua bentuk antigenic dari toksin. EHEC berhubungan dengan kolitis hemoragik, bentuk diare yang berat dan dengan sindroma uremia hemolitik, suatu penyakit akibat gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopatik, dan trombositopenia. Banyak kasus EHEC dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang. Diare ini ditemukan pada manusia, sapi, dan kambing (Nurmila & Kusdiyantini, 2018).

5. *Escherichia coli* Enteroagregatif (EAEC)



Gambar 2.7 *Escherichia coli* Enteroagregatif (EAEC) (Oktaviani, 2014)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang. Bakteri ini ditandai dengan pola khas pelekatnya pada sel manusia. EAEC memproduksi hemolisin dan ST enterotoksin yang sama dengan ETEC (Nurmila & Kusdiyantini, 2018).

2.4 Diare

Secara klinis diare dapat didefinisikan sebagai bertambahnya defekasi (buang air besar) lebih dari biasanya/lebih dari tiga kali sehari, disertai dengan perubahan konsisten tinja (menjadi cair) dengan atau tanpa darah. Secara klinik dibedakan tiga macam sindroma diare yaitu diare cair akut, disentri, dan diare

persisten (WHO, 1999) . Sedangkan menurut Depkes RI (2005), diare adalah suatu penyakit dengan tanda-tanda adanya perubahan bentuk dan konsistensi dari tinja, yang melembek sampai mencair dan bertambahnya frekuensi buang air besar biasanya tiga kali atau lebih dalam sehari.

Diare pada bayi adalah buang air besar yang terjadi pada bayi atau anak lebih dari 3 kali sehari, disertai konsistensi tinja menjadi cair dengan atau tanpa lendir dan darah yang berlangsung kurang dari satu minggu. Diare merupakan suatu keadaan pengeluaran tinja yang tidak normal atau tidak seperti biasanya. Perubahan yang terjadi berupa peningkatan volume cairan, dan frekuensi dengan atau tanpa lendir dan darah (Hidayat, 2008).

2.4.1 Epidemiologi Diare

Diare merupakan penyakit umum yang masih menjadi masalah kesehatan utama pada anak terutama pada balita di berbagai negara-negara terutama di negara berkembang. Penderita diare paling sering menyerang anak dibawah lima tahun (balita).

Berdasarkan data yang diperoleh dari World Health Organization (WHO) pada tahun 2009 menyatakan bahwa lebih dari sepertiga kematian anak secara global disebabkan karena diare sebanyak 35%. United Nations International Children's Emergency Fund (UNICEF) memperkirakan bahwa secara global diare menyebabkan kematian sekitar 3 juta penduduk setiap tahun (Herman, 2009). Beban global diare pada tahun 2011 adalah 9,00% balita meninggal dan 1,0% untuk kematian neonatus.

Di Indonesia diare merupakan salah satu penyebab kematian kedua terbesar pada balita setelah Infeksi Saluran Pernafasan Akut (ISPA). Sampai saat ini penyakit diare masih menjadi masalah masyarakat Indonesia. Prevalensi diare pada balita di Indonesia juga mengalami peningkatan setiap tahunnya.

Berdasarkan Survey Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) tahun 2012, menunjukkan keseluruhan 14% anak balita mengalami diare. Prevalensi diare tertinggi terjadi pada anak dengan umur 6-35 bulan, karena pada umur sekitar 6 bulan anak sudah tidak mendapatkan air susu ibu. Prevalensi diare berdasarkan

jenis kelamin tercatat sebanyak 8.327 penderita laki laki, dan 8054 penderita perempuan.

2.4.2 Klasifikasi Diare

Ada tiga jenis diare menurut lama terjadinya yaitu diare akut, diare persisten dan diare kronik. Klasifikasi diare berdasarkan lama waktu dapat dikelompokkan menjadi : (belum ada sitasi).

1. Diare Akut

Diare akut yaitu buang air besar dengan frekuensi yang meningkat dan konsistensi tinja yang lembek atau cair dan bersifat mendadak datangnya dan berlangsung dalam waktu kurang dari 2 minggu. Diare akut berlangsung kurang dari 14 hari tanpa diselang-seling berhenti lebih dari 2 hari.

Berdasarkan banyaknya cairan yang hilang dari tubuh penderita, gradasi penyakit diare dapat dibedakan dalam empat kategori, yaitu:

- a. Diare tanpa dehidrasi
- b. Diare dengan dehidrasi ringan, apabila cairan yang hilang 2-5% dari berat badan
- c. Diare dengan dehidrasi sedang, apabila cairan yang hilang berkisar 5-8% dari berat badan
- d. Diare dengan dehidrasi berat, apabila cairan yang hilang lebih dari 8-10% dari berat badan.

2. Diare persisten

Diare persisten adalah diare yang berlangsung 15-30 hari, merupakan kelanjutan dari diare akut atau peralihan antara diare akut dan kronik.

3 Diare Kronik

Diare kronis adalah diare hilang-timbul, atau berlangsung lama dengan penyebab non-infeksi, seperti penyakit sensitive terhadap gluten atau gangguan metabolisme yang menurun. Lama diare kronik lebih dari 30 hari. Diare kronik adalah diare yang bersifat menahun atau persisten dan berlangsung 2 minggu lebih. (belum ada sitasi).

2.4.3 Patofisiologi Diare

Mekanisme dasar yang menyebabkan timbulnya diare menurut Ngastiyah (2014) :

2.4.3.1 Gangguan osmotik

Akibat terdapatnya makanan atau zat yang tidak dapat diserap akan menyebabkan tekanan osmotik dalam rongga usus meningkat sehingga terjadi pergeseran air dan elektrolit ke dalam rongga usus. Isi rongga usus yang berlebihan akan merangsang usus untuk mengeluarkannya sehingga timbul diare.

2.4.3.2 Gangguan sekresi

Akibat terangsang tertentu (misalnya toksin) pada dinding usus akan terjadi peningkatan sekresi, air dan elektrolit ke dalam rongga usus dan selanjutnya timbul diare karena terdapat peningkatan isi rongga usus.

2.4.3.3 Gangguan motilitas usus

Hiperperistaltik akan mengakibatkan berkurangnya kesempatan usus untuk menyerap makanan sehingga timbul diare. Sebaliknya bila peristaltik usus menurun akan mengakibatkan bakteri tumbuh berlebihan, selanjutnya timbul diare pula.

2.4.4 Gambaran Klinis Diare Pada Bayi

Mula-mula bayi dan anak menjadi cengeng, gelisah, suhu tubuh biasanya meningkat, nafsu makan berkurang atau tidak ada, kemudian timbul diare. Tinja cair dan mungkin disertai lender atau darah. Warna tinja makin lama berubah menjadi kehijau-hijauan karena bercampur dengan empedu. Anus dan daerah sekitarnya lecet karena seringnya defekasi dan tinja makin lama makin asam sebagai akibat makin banyaknya asam laktat yang berasal dari laktosa yang tidak dapat diabsorpsi usus selama diare. Gejala muntah dapat terjadi sebelum atau sesudah diare dan dapat disebabkan oleh lambung yang turut meradang atau akibat gangguan keseimbangan asam basa atau elektrolit.

Bila penderita telah banyak kehilangan cairan dan elektrolit, maka gejala dehidrasi makin tampak. Berat badan menurun, turgor kulit berkurang, mata dan ubun-ubun membesar menjadi cekung, selaput lendir bibir dan mulut serta kulit

tampak kering. Berdasarkan banyaknya cairan yang hilang dapat dibagi menjadi dehidrasi ringan, sedang, dan berat, sedangkan berdasarkan tonisitas plasma dapat dibagi menjadi dehidrasi hipotonik, isotonik, dan hipertonik.

2.4.5 Penatalaksanaan Diare

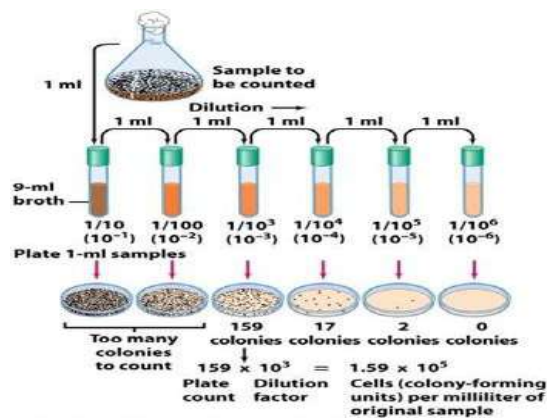
Pada saat diare, terjadi proses peningkatan motilitas atau pergerakan usus untuk mengeluarkan kotoran atau racun. Anti diare akan menghambat proses tersebut sehingga tidak boleh diberikan pada bayi dan anak. Pemberian anti diare pada bayi dan anak justru dapat menimbulkan komplikasi berupa prolapsus pada usus yang membutuhkan tindakan operasi.

Ibu maupun pengasuh bayi yang berhubungan harus diberikan edukasi mengenai cara pemberian oralit, zinc sulfat, ASI dan makanan, serta tanda-tanda kapan harus segera dibawa lagi ke tempat pelayanan kesehatan. Berikut adalah tanda-tandanya : BAB cair lebih sering, muntah berulang-ulang, dehidrasi, makan sedikit, demam, tinja berdarah, dan keluhan diare tidak membaik dalam waktu 3 hari. Pencegahan diare dapat dilakukan dengan memberikan ASI eksklusif selama 6 bulan dan diteruskan sampai usia 2 tahun, memberikan MP-ASI sesuai umur, menggunakan air bersih yang cukup, mencuci tangan dengan air dan sabun sebelum makan dan sesudah BAB, BAB di jamban, membuang tinja bayi dengan benar, memberikan imunisasi campak. Pemberian vaksin Rotavirus juga dapat dilakukan dimana rekomendasi Ikatan Dokter Anak Indonesia (IDAI) tahun 2014 menganjurkan pemberian vaksin Rotavirus saat anak berusia 2, 4, dan 6 bulan.

2.5 Metode Angka Lempeng Total (ALT)

Angka Lempeng Total adalah angka yang menunjukkan jumlah bakteri mesofil di setiap 1ml atau 1g sampel makanan yang diperiksa. Prinsip ALT adalah menanam sampel makanan pada medium plate sesuai metode penuangan, kemudian menghitung pertumbuhan koloni bakteri mesofil aerob setelah diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 24-48 jam. Uji Angka Lempeng Total adalah metode yang biasa digunakan untuk menghitung keberadaan bakteri dalam sediaan yang diuji (Sundari, 2019).

Uji Angka Lempeng Total dapat dilakukan dengan dua teknik, yaitu teknik *pour plate* dan teknik *spread plate*. Prinsip yang digunakan yakni sediaan yang diuji diencerkan kemudian ditanam pada media agar. Setelah diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai, jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada cawan agar dapat dihitung. Perhitungan dilakukan dengan jumlah koloni bakterinya antara 30-300. Angka Lempeng Total dinyatakan sebagai jumlah koloni bakteri yang dihitung dikalikan dengan faktor pengenceran. Mikroorganisme hidup yang ditumbuhkan pada media agar akan berkembang biak membentuk koloni yang dapat dilihat secara langsung dan dapat dihitung dengan mata tanpa mikroskop (Sundari, 2019).



Gambar 2.8 Metode Perhitungan ALT (Sundari, 2019)

Metode hitungan cawan termasuk cara yang paling sensitif sebab :

1. Hanya sel yang masih hidup yang dapat dihitung.
2. Beberapa mikroorganisme dapat dihitung satu kali.
3. Dapat digunakan untuk isolasi dan identitas mikroorganisme karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari mikroorganisme yang menetap menampakkan pertumbuhan yang spesifik (Sundari, 2019).

Adanya jumlah angka lempeng total yang ditemukan pada suatu sampel dapat dijadikan acuan bahwa sampel tersebut masih layak untuk dikonsumsi atau tidak. Adapun untuk batas persyaratan sesuai MA.85/MIK/06 perhitungan dari angka lempeng total adalah :

1. Mikroba yang dapat dihitung 30-300 koloni
2. >30 koloni, dianggap cemaran
3. <300 koloni, spreader atau tak terhitung sehingga tak dapat dihitung

4. Jumlah bakteri adalah jumlah koloni x faktor pengenceran.
5. Perbandingan jumlah bakteri dari pengenceran berturut-turut antara pengenceran yang akhir dengan pengenceran yang sebelumnya.
6. Jika sama atau kurang dari 2 maka hasilnya dirata-rata. Jika lebih dari 2 digunakan pengenceran sebelumnya (Sundari, 2019).

Keuntungan dari metode pertumbuhan agar atau metode uji Angka Lempeng Total adalah dapat mengetahui jumlah mikroba yang dominan. Keuntungan lainnya dapat diketahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam sampel.

Adapun kelemahan dari metode ini adalah :

1. Kemungkinan terjadinya koloni yang berasal lebih dari satu sel mikroba, seperti pada mikroba yang berpasangan, rantai atau kelompok sel.
2. Kemungkinan ini akan memperkecil jumlah sel mikroba yang sebenarnya. Kemungkinan ada jenis mikroba yang tidak dapat tumbuh karena penggunaan jenis media agar, suhu, pH, atau kandungan oksigen selama masa inkubasi.
3. Kemungkinan ada jenis mikroba tertentu yang tumbuh menyebar di seluruh permukaan media agar sehingga menghalangi mikroba lain. Hal ini akan mengakibatkan mikroba lain tersebut tidak terhitung.
4. Penghitungan dilakukan pada media agar yang jumlah populasi mikroba 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.
5. Penghitungan populasi mikroba dapat dilakukan setelah masa inkubasi yang umumnya mem-butuhkan waktu 24 jam atau lebih (Sundari, 2019).

2.6 Metode Most Probable Number (MPN)

MPN (*most probable number*) adalah metode enumerasi mikroorganisme yang menggunakan data dari hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik dalam seri tabung yang ditanam dari sampel padat atau cair sehingga

dihasilkan kisaran jumlah mikroorganisme dalam jumlah perkiraan terdekat (Harti, 2015).

Prinsip utama metode ini adalah mengencerkan sampel sampai tingkat tertentu sehingga didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai dan jika ditanam dalam tabung menghasilkan frekuensi pertumbuhan tabung positif “kadang-kadang tetapi tidak selalu”. Semakin besar jumlah sampel yang dimasukkan (semakin rendah pengenceran yang dilakukan) maka semakin “sering” tabung positif yang muncul. Semakin kecil jumlah sampel yang dimasukkan (semakin tinggi pengenceran yang dilakukan) maka semakin “jarang” tabung positif yang muncul. Semua tabung positif yang dihasilkan sangat tergantung dengan probabilitas sel yang terambil oleh pipet saat memasukkannya ke dalam media. Oleh karena itu homogenisasi sangat berpengaruh dalam metode ini. Frekuensi positif (ya) atau negatif (tidak) ini menggambarkan konsentrasi mikroorganisme pada sampel sebelum diencerkan. Perubahan dari data positif atau negatif sampai menghasilkan angka dilakukan dengan proses perhitungan peluang. Jadi nilai MPN adalah suatu angka yang menggambarkan jumlah mikroorganisme yang memiliki kemungkinan paling tinggi (Selian LS, Warganegara E, 2013).

Asumsi yang diterapkan dalam metode MPN adalah :

1. Bakteri terdistribusi secara merata dalam sampel
2. Sel bakteri terpisah, tidak dalam bentuk rantai atau kelompok (bakteri koliform termasuk *Escherichia coli*), terpisah dari setiap sel dan tidak membentuk rantai.
3. Media yang dipilih cocok untuk pertumbuhan bakteri target pada suhu dan waktu inkubasi tertentu, sehingga minimal satu sel hidup dapat menghasilkan tabung positif selama inkubasi.
4. Jumlah yang diperoleh hanya mewakili bakteri hidup. Sel yang terluka dan tidak dapat menghasilkan tabung positif tidak akan terdeteksi (Selian LS, Warganegara E, 2013).

Metode MPN lebih cocok untuk diterapkan pada sampel yang memiliki konsentrasi <100/g atau ml. Oleh karena itu nilai MPN dari sampel yang memiliki populasi mikroorganisme yang tinggi umumnya tidak begitu menggambarkan jumlah mikroorganisme yang sebenarnya. Jika jumlah kombinasi tabung positif

tidak sesuai dengan tabel maka sampel harus diuji ulang. Semakin banyak seri tabung maka semakin tinggi akurasi tetapi juga akan mempertinggi biaya analisa (Selian LS, Warganegara E, 2013)

Pemilihan media sangat mempengaruhi metode MPN yang digunakan. Umumnya media yang digunakan mengandung nutrisi khusus untuk pertumbuhan bakteri tertentu. Misalnya, penggunaan media Brilliant Green Lactose Broth (BGLB) saat mendeteksi bakteri coliform. Media ini mengandung laktosa dan garam empedu yang hanya dapat menumbuhkan bakteri coliform. Jika media yang digunakan tidak sesuai dengan jenis bakterinya, maka metode MPN tidak akan menghitung bakteri target. Untuk menghitung bakteri koliform, bisa menggunakan media Lauryl Sulfate Tryptose (LST), sedangkan untuk menghitung EC, memerlukan media EC broth (Selian LS, Warganegara E, 2013).

Inkubasi pada suhu 35°C selama kurang lebih 48 jam, bakteri *Escherichia coli* yang difermentasi dengan medium laktosa akan menghasilkan gas, hal ini merupakan indikator hasil metode MPN. Dengan cara menghitung jumlah tabung reaksi yang terdapat gas kemudian disesuaikan dengan tabel MPN (Krisna, 2005). Ada 3 macam ragam yang digunakan dalam metode MPN

yaitu :

1. Ragam I : 5 x 10 ml, 1 x 1 ml, 1 x 0,1 ml.

Untuk spesimen yang sudah diolah atau angka kumannya diperkirakan rendah.

2. Ragam II : 5 x 10 ml, 5 x 1ml, 5 x 0,1 ml.

Untuk spesimen yang belum diolah atau yang angka kumannya diperkirakan tinggi.

Kalau perlu penanaman dapat dilanjutkan dengan 5 x 0,01 ml dan seterusnya.

3. Ragam III : 3 x 10 ml, 3 x 1 ml, 3 x 0,1 ml.

Adalah ragam alternatif untuk ragam I, apabila jumlah tabung terbatas begitu pula persediaan media juga terbatas, cara pelaksanaannya seperti ragam I (Soemarno, 2002).

Tabel 2.4 Tabel MPN untuk 3 seri tabung dengan 0,1, 0,01 dan 0,001 g inoculum dengan interval kepercayaan 95% (Dhafin, 2017)

Tabung positif			MPN/g	Conf. lim.		Tabung positif			MPN/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Bawah	Atas	0.10	0.01	0.001		Bawah	Atas
0	0	0	<3.0	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

Metode MPN terdiri dari 3 langkah, yaitu :

1. Uji Perkiraan (Presumptive Test)

Merupakan metode untuk memprediksi keberadaan *Escherichia coli* yang dapat memfermentasi laktosa dengan menghasilkan gas. Bakteri *Escherichia coli*, termasuk bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, tetapi selnya membentuk sel pendek, yaitu anaerob fakultatif yang membentuk gas dalam waktu 24 jam pada suhu 37°C. Jika gas terbentuk dalam 24 jam berikutnya (48 jam), uji dinyatakan mencurigakan. Pada saat yang sama, jika tidak ada gas yang terbentuk dalam waktu 48 jam, hasil tesnya negatif. Jika hasil pengujian diperkirakan negatif maka tidak diperlukan pengujian lebih lanjut, karena dalam hal ini juga berarti tidak terdapat EC dalam sampel (Dhafin, 2017).



Gambar 2.9 Hasil positif dengan adanya gelembung udara (kiri), hasil negatif tidak adanya gelembung udara (kanan) (Dhafin, 2017)

2. Uji Penegasan (Confirmed Test)

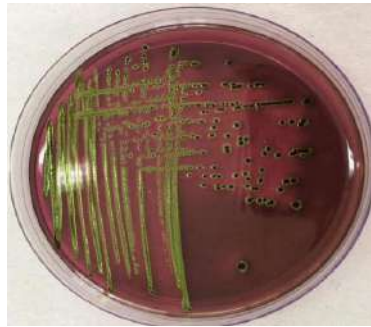
Tabung reaksi positif yang diperoleh dari uji praduga dilanjutkan dengan uji penetapan. Sampel positif yang menunjukkan gas diinokulasi pada medium EC broth, kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 48 jam. Dijumlah tabung yang menghasilkan gas hasil tes MPN, yaitu jumlah tabung positif yang ditunjukkan dengan terbentuknya gas pada tabung durham terbalik karena adanya pertumbuhan bakteri. Kemudian dapat dibandingkan dengan tabel MPN. Angka yang diperoleh dalam tabel MPN menunjukkan jumlah bakteri per gram atau per mililiter sampel. Pada uji penegasan juga dapat digunakan media Brilliant Green Lactose Broth atau media lain yang sesuai dengan bakteri yang dianalisis (Dhafin, 2017).



Gambar 2.10 Tabung kontrol negatif (kiri), Tabung sampel negatif (tengah), Tabung sampel positif (kanan) (Dhafin, 2017)

3. Uji Pelengkap

Uji pelengkap dilakukan dengan menginokulasikan koloni bakteri pada medium agar dengan cara digoreskan dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Agar yang digunakan adalah EMB Agar. Pembentukan pada media agar ini mengakibatkan media agar menjadi berwarna merah menyala dikarenakan adanya pertumbuhan bakteri EC (Dhafin, 2017).



Gambar 2.11 Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada media EMBA (Dhafin, 2017)

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Seperangkat alat gelas, pinset, pipet tetes, mikropipet, cawan petri, tabung reaksi, tabung durham, tabung khan, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF), Autoclaf, colony counter, neraca analitik, cawan porselin, spatel logam, sendok tanduk, aluminium foil, kapas, ose, bunsen.

3.1.2 Bahan

Aquades, Bakteri *Escherichia coli* ATCC 2592, Peptone Dilution Fluid (PDF), Tryptic Soy Agar (TSA), Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC) 0,5%, Lauryl Tryptose Broth (LTB), EC broth, Eosin Methylen Blue Agar (EMBA), spirtus, Kristal Violet, larutan Iodium 1%, Lugol, Safranin

3.2 Variabel

3.2.1 Variabel Bebas

Pada penelitian ini yang termasuk variabel bebas adalah bubur bayi yang beredar di kabupaten Tulungagung.

3.2.2 Variabel Kontrol

Pada penelitian ini yang termasuk variabel kontrol adalah metode analisis bakteri *Escherichia coli* yakni ALT dan MPN.

3.2.3 Variabel Terikat

Pada penelitian ini yang termasuk variabel terikat adalah jumlah kandungan bakteri *Escherichia coli*.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah seluruh bubur bayi yang beredar di kabupaten Tulungagung.

3.3.2 Sampel

Metode pengambilan sampel yang digunakan adalah *Simple Random Sampling* yaitu suatu teknik pengambilan sampel atau elemen secara acak, dimana setiap elemen atau anggota populasi memiliki kesempatan yang sama untuk terpilih menjadi sampel. Sehingga diperoleh sampel bubur bayi sebanyak 10 sampel dari outlet atau produsen yang berbeda.

3.4 Cara Penelitian

3.4.1 Uji Pewarnaan Gram Bakteri *Escherichia coli*

Diambil satu ose biakan bakteri *Escherichia coli*, kemudian diletakkan pada objek glass. Dibasahi dengan larutan zat warna karbol gentinviolet (Karbol kristal violet, karbol metilviolet) dan didiamkan beberapa menit kemudian dicuci dengan air. Kemudian disiram dengan larutan iodium dan dibiarkan terendam dalam waktu yang sama setelah itu dicuci dengan air dan dikeringkan. Langkah selanjutnya, preparat didekolorisasi atau ditambahkan dengan alkohol atau campuran alkohol dan aseton sampai semua zat warna tampak luntur dari film. Preparat dicuci dengan air, lalu preparat diberi warna kontras (*counterstain*) seperti safranin, karbolfuksin encer, air fluksin, tengguli bismack, atau pironin B. Langkah terakhir yaitu preparat dicuci dengan air kemudian dikeringkan untuk selanjutnya dianalisis (Irianto, 2014).

3.4.2 Angka Lempeng Total (ALT)

Pada masing-masing sampel diambil sebanyak 1 gram dan ditambahkan 9 mL media pengencer Peptone Dilution Fluid (PDF) menghasilkan pengenceran 10^{-1} , Hasil pengenceran 10^{-1} kemudian diencerkan secara berjenjang dengan pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} dan 10^{-4} . Pengenceran yang dilakukan dihomogenkan dengan cara dikocok. Masing-masing pengenceran diambil sebanyak 1000 μ L dan

dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilisasi. Media tumbuh yang merupakan campuran antara larutan Tryptic Soy Agar (TSA) 500 mL dan 2,5 mL Triphenyl Tetrazolium Chloride (TTC) 0,5% ditambahkan pada setiap cawan petri sebanyak ± 20 mL. Masing-masing pengenceran dilakukan replikasi sebanyak 2 kali. Kemudian masing-masing cawan petri diputar menyerupai angka 8 dan didiamkan selama beberapa menit hingga media agar memadat. Cawan petri yang sudah siap kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 hingga 48 jam dengan posisi terbalik. Hasil inkubasi kemudian dilakukan uji pewarnaan kemudian dapat dihitung jumlah bakterinya menggunakan colony counter (Nurmila & Kusdiyantini, 2018). Setelah dilakukan perhitungan, maka dapat dimasukkan ke dalam persamaan berikut.

$$\text{a. Jumlah koloni (koloni/gram)} = (A1 + A2) + (B1 + B2) + (C1 + C2)$$

.....Persamaan 3.1

Keterangan :

A1 : jumlah koloni pengenceran 10^{-2} pada replikasi 1

A2 : jumlah koloni pengenceran 10^{-2} pada replikasi 2

B1 : jumlah koloni pengenceran 10^{-3} pada replikasi 1

B2 : jumlah koloni pengenceran 10^{-3} pada replikasi 2

C1 : jumlah koloni pengenceran 10^{-4} pada replikasi 1

C2 : jumlah koloni pengenceran 10^{-4} pada replikasi 2

$$\text{b. Jumlah bakteri (CFU/gram)} = \left(\text{rata - rata koloni } P1 \frac{1}{FP1} \right) + \left(\text{rata - rata koloni } P2 \frac{1}{FP2} \right) + \left(\text{rata - rata koloni } P3 \frac{1}{FP3} \right) \dots$$

Persamaan 3.2

Keterangan :

P1 : Pengenceran 10^{-2}

P2 : Pengenceran 10^{-3}

P3 : Pengenceran 10^{-4}

FP1 : Faktor Pengenceran 10^{-2}

FP2 : Faktor Pengenceran 10^{-3}

FP3 : Faktor Pengenceran 10^{-4}

3.4.3 *Most Probable Number* (MPN)

3.4.3.1 Pengenceran

Sampel yang telah dihomogenkan dengan Pepton Dilution Fluid (PDF) sebanyak 10 mL, Kemudian dilakukan pengenceran dengan memasukkan sampel pada tabung pertama (10^{-1}) sebanyak 1 mL. Pada tabung pertama (10^{-1}) diambil 1 mL lalu memasukkan ke dalam tabung kedua (10^{-2}) yang telah diberi larutan Buffer field phosphate (BPS) sebanyak 9 mL. Pada tabung kedua diambil 10 mL lalu memasukkan ke tabung ketiga (10^{-3}) yang telah diberi larutan Buffer field phosphate (BPS) sebanyak 9 mL (Saridewi et al., 2017).

3.4.3.2 Tes Perkiraan (Presumptive Test)

Pada tes perkiraan disiapkan 9 tabung (seri 3-3-3) untuk pengenceran bertingkat. Masing-masing tabung yang berisi tabung durham terbalik ditambahkan dengan media Lauryl Tryptose Broth (LB) sebanyak 9 mL kemudian disterilkan menggunakan autoklaf. Setelah suhu media menurum dapat ditambahkan dengan sampel uji. Pada 3 tabung seri pertama (10^{-1}) dimasukkan 1 mL sampel yang telah dilarutkan dengan menggunakan pelarut PDF pada tabung pertama (10^{-1}). Pada 3 tabung seri kedua (10^{-2}) dimasukkan 1 mL sampel makanan yang telah dilarutkan dengan pelarut PDF pada tabung kedua (10^{-2}). Pada 3 tabung seri ketiga (10^{-3}) dimasukkan 1 ml sampel makanan yang telah dilarutkan dengan PDF pada tabung ketiga (10^{-3}). Sembilan tabung yang telah terisi sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati apakah terbentuk gas pada tiap-tiap tabung. Terbentuknya gas dan perubahan media menjadi keruh menandakan tes perkiraan positif. Hasil tersebut dilakukan uji pewarnaan terlebih dahulu kemudian dapat dilanjutkan ke tes penegasan (Saridewi et al., 2017).

3.4.3.3 Tes Penegasan (Confirmed Test)

Hasil sampel yang positif maupun tidak pada tes perkiraan dapat dilanjutkan dengan memasukkan sampel ke dalam media Escherechia Coli Broth untuk uji bakteri EC. Untuk uji EC, ditanam 1 ose biakan ke dalam tabung yang berisi 10 ml EC broth yang didalamnya terdapat tabung durham terbalik. Sampel diinkubasi

selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Diamati tabung yang didalamnya terdapat gas. Kemudian dilakukan uji pewarnaan. Banyaknya perkiraan kandungan EC dapat dilihat dan dibandingkan dengan tabel MPN (Saridewi et al., 2017).

3.4.3.4 Tes Pelengkap (Completed Test)

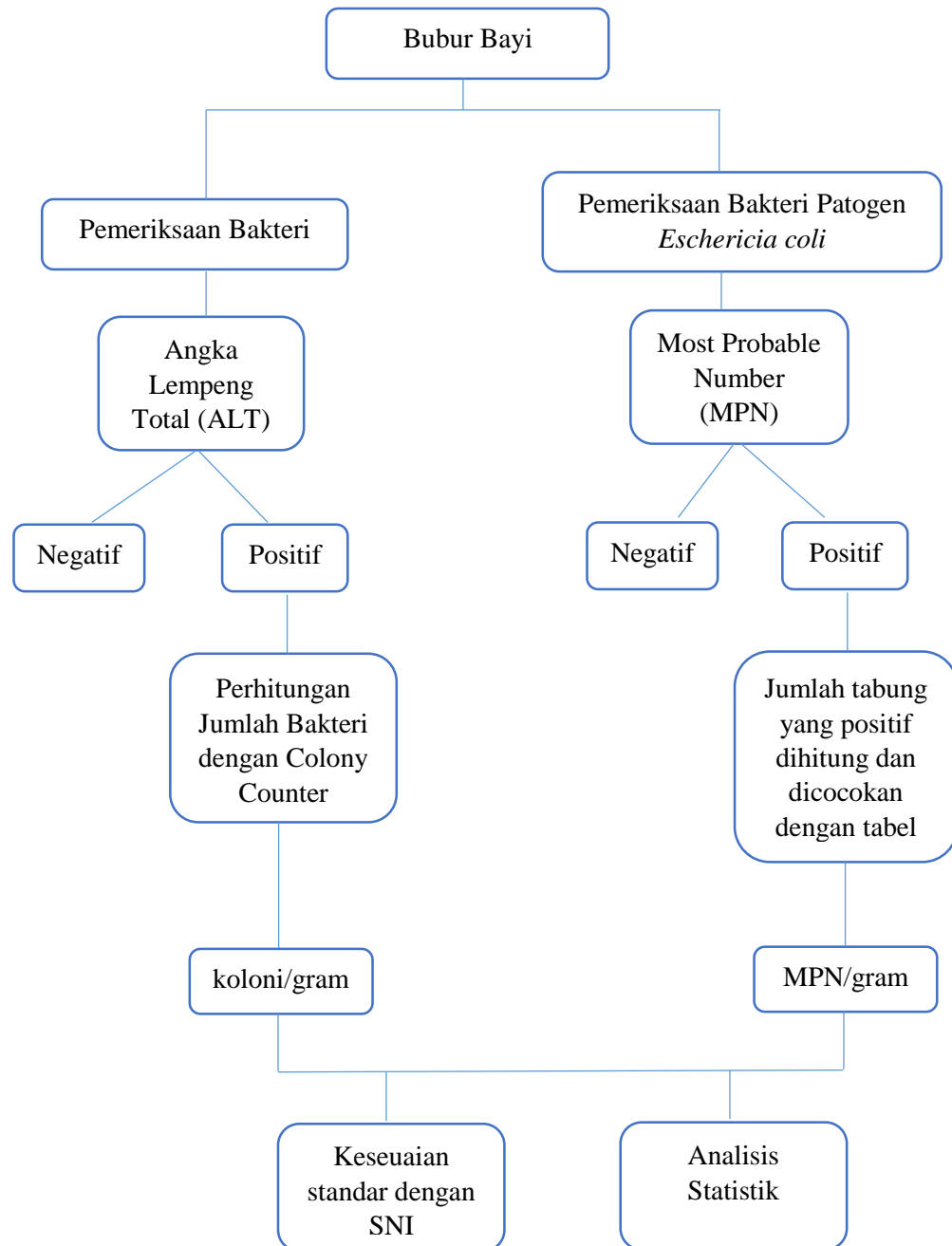
Tes pelengkap dilakukan dengan menanam hasil positif EC Broth sebanyak 1 ose ke media Eosin Metylen Blue Agar (EMBA) dengan cara media yang telah memadat digoreskan dengan hasil positif dari tes penegasan. Sampel diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif pada media EMBA (ditandai dengan penampakan fisik warna hijau metalik). Media EMBA adalah media selektif dan diferensial yang digunakan untuk isolasi bakteri gram negatif dari spesimen klinis dan non-klinis (Saridewi et al., 2017)

3.4.4 Hipotesis

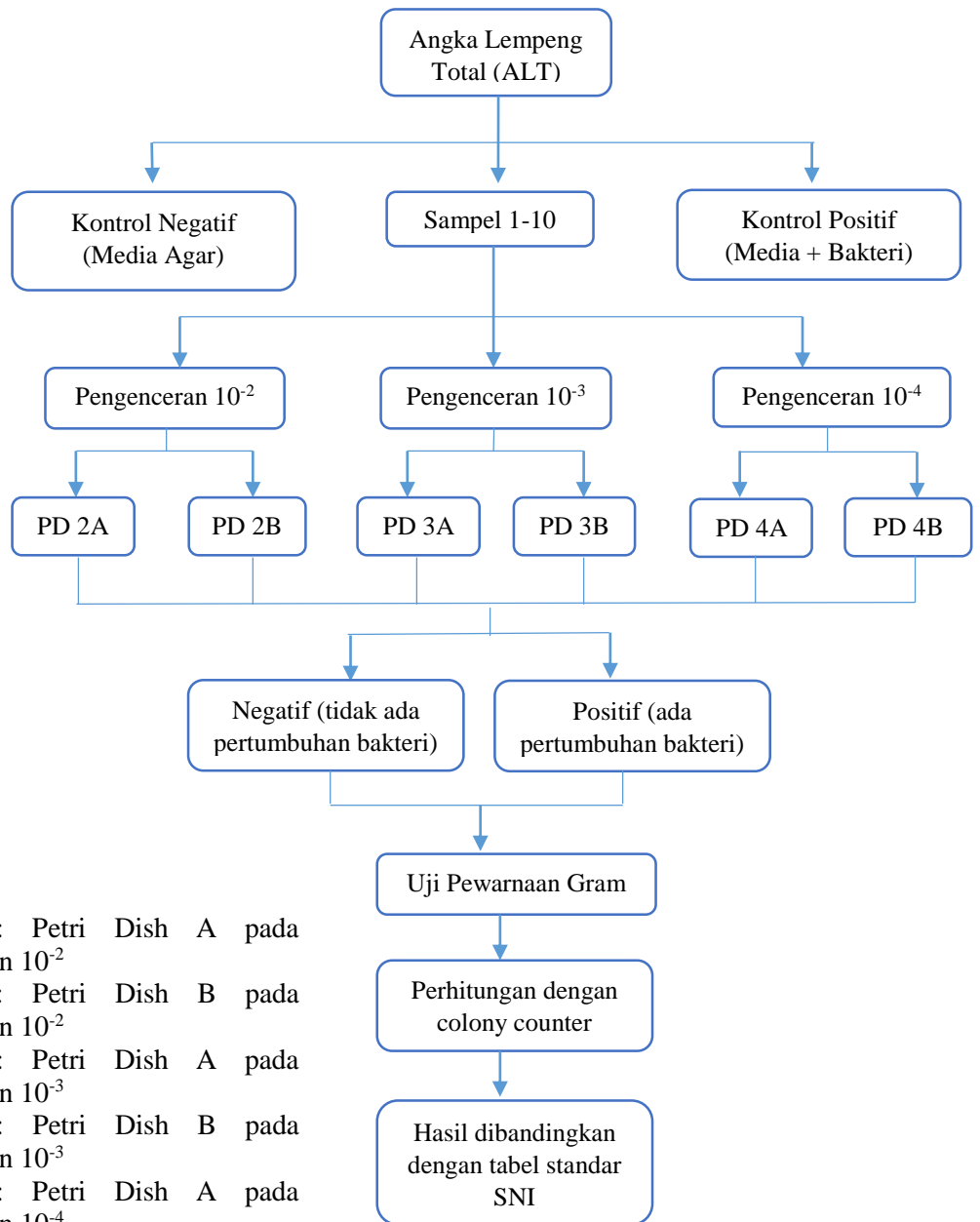
- 3.4.4.1 Ho : tidak terdapat cemaran bakteri *Escherichia coli* pada bubur bayi yang beredar di wilayah Kabupaten Tulungagung.
- 3.4.4.2 Ha : terdapat cemaran bakteri *Escherichia coli* pada bubur bayi yang beredar di wilayah Kabupaten Tulungagung.

3.5 Kerangka Penelitian

3.5.1 Kerangka Penelitian Skripsi



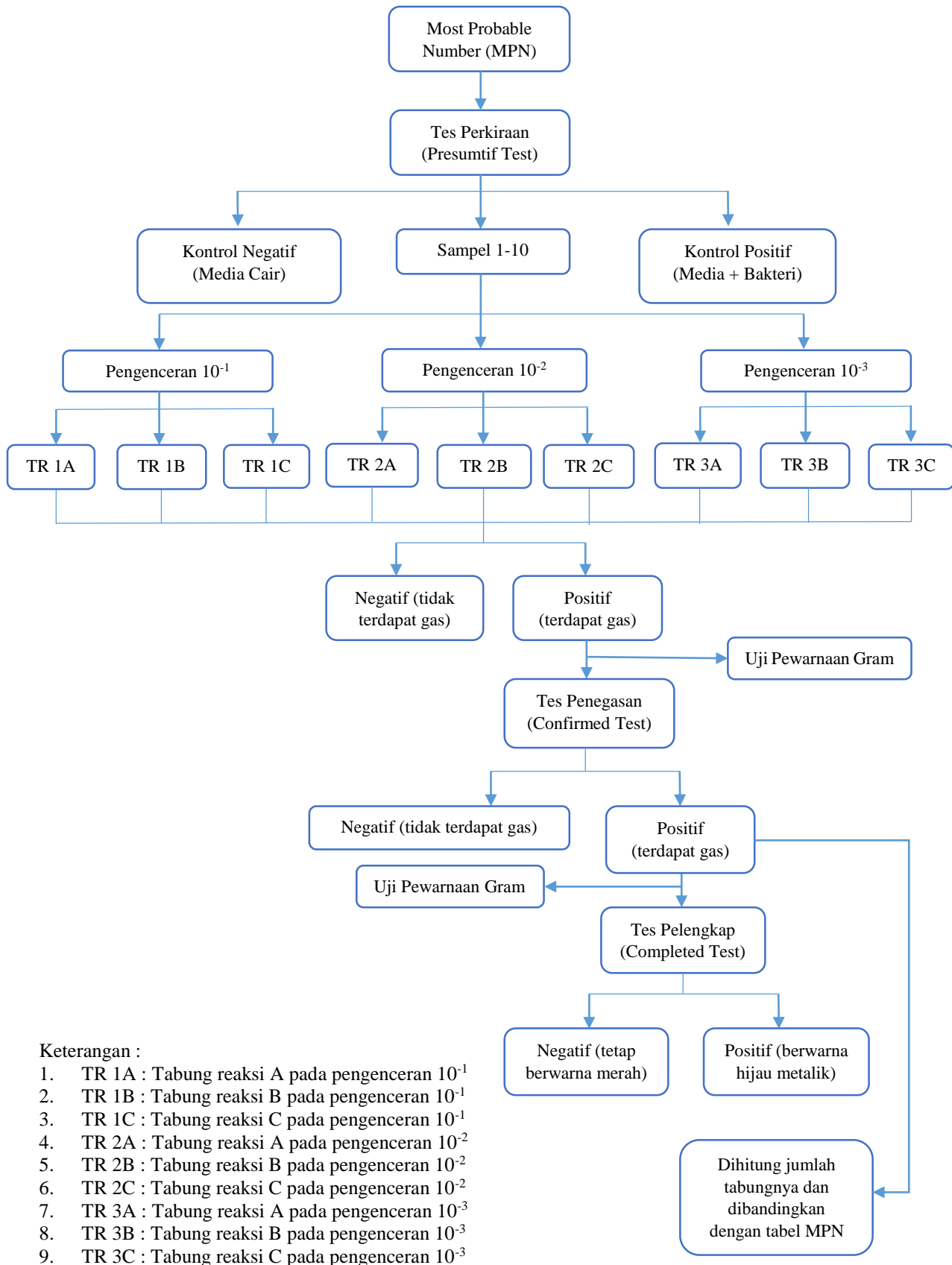
3.5.2 Kerangka Metode Penelitian ALT



Keterangan :

1. PD 2A : Petri Dish A pada pengenceran 10^{-2}
2. PD 2B : Petri Dish B pada pengenceran 10^{-2}
3. PD 3A : Petri Dish A pada pengenceran 10^{-3}
4. PD 3B : Petri Dish B pada pengenceran 10^{-3}
5. PD 4A : Petri Dish A pada pengenceran 10^{-4}
6. PD 4B : Petri Dish B pada pengenceran 10^{-4}

3.5.3 Kerangka Metode Penelitian MPN



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental untuk mengetahui higienitas dari MP-ASI bubur bayi *home industry* yang beredar di wilayah kabupaten Tulungagung. Higienitas dari MP-ASI dapat diketahui dengan melakukan pemeriksaan mikrobiologi salah satunya yaitu kandungan bakteri patogen *Escherichia coli*. Pengambilan sampel menggunakan metode *Simple Random Sampling* yaitu suatu teknik pengambilan sampel atau elemen secara acak, dimana setiap elemen atau anggota populasi memiliki kesempatan yang sama untuk terpilih menjadi sampel. Sampel bubur bayi yang akan diteliti diperoleh dari outlet yang tersebar di wilayah kabupaten Tulungagung sebanyak 10 dengan merk yang berbeda-beda. Sampel yang dipilih termasuk bubur bayi tradisional yang sudah diolah sehingga tidak dapat bertahan lama. Sampel akan diuji cemaran bakteri dengan menggunakan dua metode yaitu ALT dan MPN.

Proses pertama yaitu persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. Semua alat dan bahan dilakukan sterilisasi agar terhindar dari bakteri, jamur dan kapang yang dapat mempengaruhi hasil pengujian. Sterilisasi yaitu proses penghilangan atau pemusnahan semua jenis mikroorganisme yang terdapat pada suatu benda. Metode sterilisasi yang digunakan yaitu sterilisasi basah menggunakan alat yaitu autoklaf. Autoklaf memiliki prinsip kerja dengan menggunakan uap air selama 15 menit dengan suhu 121°C. Proses sterilisasi dapat membunuh mikroorganisme dengan cara mendenaturasi atau mengkoagulasi protein pada enzim dan membrane sel mikroorganisme (Dhafin, 2017)

4.1 Uji Cemaran Bakteri pada Bubur Bayi Menggunakan Metode ALT

ALT merupakan singkatan dari Angka Lempeng Total yang biasa digunakan dalam pengujian cemaran bakteri pada sampel makanan maupun minuman baik yang sudah diolah maupun yang masih belum diolah. Pada penelitian ini menggunakan metode tuang atau pour plate pada media padat kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C dengan posisi cawan terbalik.

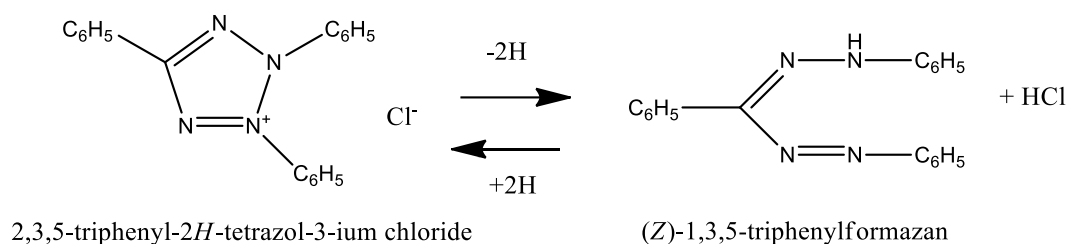
4.1.1 Preparasi Sampel

Sampel terlebih dahulu diberikan perlakuan sebelum dilakukan pengujian. Sampel bubuk bayi dihaluskan dengan menggunakan mortir dan stamper dimaksudkan agar lebih halus dan mudah untuk diencerkan. Selanjutnya ditimbang sebanyak 1 gram dan ditambahkan dengan Pepton Dilution Fluid 0,1 % sebagai larutan pengencernya. Bahan yang terkandung dalam Pepton Dilution Fluid yakni pepton digunakan sebagai sumber nitrogen, karbohidrat, asam amino, vitamin dan nutrisi esensial untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pengenceran dilakukan secara bertingkat dengan mengambil 1 ml sampel kemudian ditambahkan 9 ml larutan pengencer dan dilanjutkan hingga seri pengenceran yang diinginkan. Seri pengenceran yang digunakan dalam pengujian ini adalah 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} . Karena pada pengenceran 10-1 jumlah koloni bakteri yang tumbuh tidak dapat dihitung.

4.1.2 Uji Cemar Bakteri

Media yang digunakan untuk pengujian ini yaitu campuran dari Tryptic Soy Agar dan Tryphenil Tetrazolium Chloride 0,5%. Tryptic Soy Agar mengandung Casein Pepton sebagai sumber nitrogen, vitamin dan mineral, Soya Pepton sebagai sumber energi, dan Natrium Klorida yang berfungsi mengatur keseimbangan tekanan osmosis. Penambahan Tryphenil Tetrazolium Chloride 0,5% dalam media adalah sebagai indikator untuk melihat perubahan warna pada koloni bakteri sehingga dapat mempermudah dalam membedakan antara koloni bakteri dengan kotoran yang dapat mengganggu pengujian. Perubahan warna terjadi karena adanya proses reduksi TTC oleh bakteri sehingga membentuk zat formazan yang mengendap dan berwarna kemerahan. Zat warna merah ini menunjukkan adanya sel bakteri hidup (Ruga, 2011)

TTC dapat dibentuk dari hasil reaksi antara *benzenediazonium klorida* dengan *benzalphenylhydrazon* pada suasana alkali, yang kemudian disusul oleh oksidasi pada cincin diazonium. Untuk reaksi sebaliknya maka TTC direduksi dalam suasana basa lemah menjadi formazan yang berwarna merah (Kusuma, 2009)



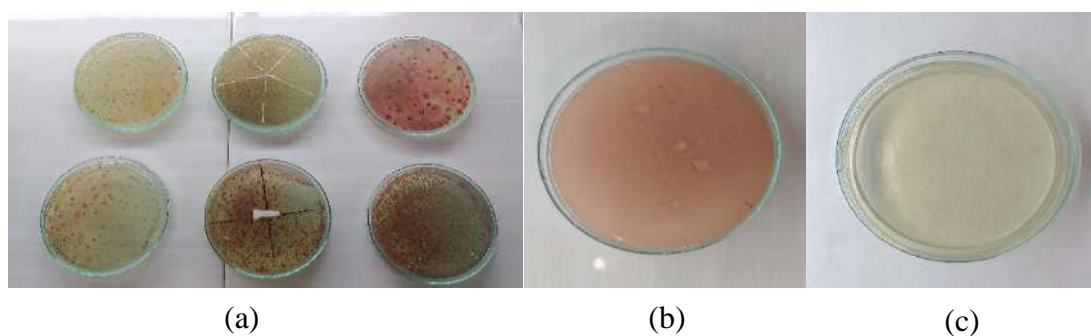
Gambar 4.1 Reaksi Reduksi *Triphenyltetrazolium Chloride* (TTC) Menjadi Formazan (Moussa et al., 2013)

Dalam pengujian untuk Angka Lempeng Total, TTC sering digunakan sebagai indikator koloni karena kebanyakan bakteri dapat mereduksi TTC menjadi formazan sehingga koloni dapat terlihat jelas meskipun dalam medium yang keruh karena terdapat matriks sampel yang kompleks (Kusuma, 2009)

TTC berfungsi untuk mengindikasikan aktivitas enzim dehidrogenase dalam sel hidup, dimana sel hidup dapat memindahkan hidrogen dan elektron melalui reaksi dehidrogenase untuk memproduksi zat berwarna merah yaitu formazan. Ikatan NH dan HCL yang terbentuk pada zat formazan menandakan terjadinya reaksi reduksi karena reaksi reduksi berlangsung ketika terjadi pengambilan elektron oleh suatu zat (Ruga, 2011).

Pada pengujian ALT menggunakan metode *pour plate* yaitu sampel yang sudah diencerkan sesuai dengan seri pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , dan 10^{-4} dimasukkan terlebih dahulu ke dalam cawan petri kemudian ditambahkan dengan media.

Berikut gambar hasil pengujian ALT pada bubur bayi *home industry*.



Ket : (a) hasil pengujian, (b) kontrol positif, (c) kontrol negatif

Gambar 4.2 Hasil Pemeriksaan Bakteri Metode ALT

Berdasarkan gambar 4.2 terlihat jelas perbedaan antara media yang terdapat koloni bakteri (kontrol positif) dan tidak terdapat koloni bakteri (kontrol negatif). Hasil kontrol negatif yang sama sekali tidak terdapat pertumbuhan koloni bakteri menunjukkan bahwa media yang digunakan sudah steril dan tidak tercemar bakteri pada saat proses pengujian.

4.1.3 Perbandingan Jumlah Bakteri dengan SNI

Perhitungan bakteri dilakukan dengan menggunakan colony counter. Colony counter merupakan alat bantu yang digunakan untuk menghitung koloni bakteri yang tumbuh di media pada cawan petri. Berikut ini hasil perhitungan bakteri pada metode ALT yang merujuk pada persamaan 3.1 untuk jumlah koloni dan persamaan 3.2 untuk jumlah bakteri

Tabel 4.1 Hasil Pemeriksaan Bakteri Pada Bubur Bayi *Home industry* Dengan Metode ALT

Sampel	Hasil Penelitian							
	10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		Jumlah koloni (koloni/gram)	Jumlah Bakteri (CFU/gram)
	A	B	A	B	A	B		
1	295	296	122	124	28	40	8,8 x 10 ²	5.9 x 10 ⁵
2	286	302	130	133	27	39	5,8 x 10 ²	5.9 x 10 ⁵
3	310	297	134	130	29	37	6,0 x 10 ²	5.7 x 10 ⁵
4	260	315	138	134	38	40	6,1 x 10 ²	5.9 x 10 ⁵
5	219	226	126	122	33	34	7,6 x 10 ²	5.3 x 10 ⁵
6	273	337	142	139	40	39	6,3 x 10 ²	6.0 x 10 ⁵
7	305	254	111	106	22	23	4,7 x 10 ²	1.7 x 10 ⁵
8	241	365	108	95	21	20	4,4 x 10 ²	1.5 x 10 ⁵
9	360	262	146	142	47	24	6,0 x 10 ²	6.9 x 10 ⁵
10	295	279	123	127	44	25	8,6 x 10 ²	6.3 x 10 ⁵

Seluruh sampel bubur bayi *home industry* yang dilakukan pemeriksaan menunjukkan hasil adanya pertumbuhan koloni bakteri dengan jumlah yang bervariasi. Namun, hanya sampel yang memenuhi syarat 30-300 koloni yang dapat dihitung. Hasil perhitungan koloni tertinggi yaitu pada sampel 1 sebesar 8,8 x 10² koloni/gram dengan jumlah bakteri 5.9 x 10⁵ CFU/gram. Sedangkan hasil

perhitungan koloni terendah yaitu $4,4 \times 10^2$ koloni/gram dan jumlah bakteri sebanyak $1,5 \times 10^5$ yang diperoleh sampel 8. Hasil perhitungan bakteri kemudian dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia.

Tabel 4.2 Perbandingan Hasil Perhitungan Bakteri Pada Sampel Bubur Bayi

Home industry dengan SNI

Sampel	Hasil Pemeriksaan (ALT)	Standar (SNI) (koloni/gram)	Keterangan
1	$8,8 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
2	$5,8 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
3	$6,0 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
4	$6,1 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
5	$7,6 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
6	$6,3 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
7	$4,7 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
8	$4,4 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
9	$6,0 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar
10	$8,6 \times 10^2$	1×10^2	Tidak sesuai standar

Berdasarkan tabel 4.2 seluruh sampel bubur bayi *home industry* yang dilakukan pemeriksaan tidak sesuai dengan standar yaitu jumlah bakteri melebihi batas maksimum yang dianjurkan oleh Standar Nasional Indonesia. Pada sampel 1 menghasilkan jumlah bakteri sebanyak $8,8 \times 10^2$ koloni/gram yang melebihi batas standar sebesar 1×10^2 koloni/gram. Pada sampel 8 yang memiliki jumlah bakteri paling rendah dibandingkan dengan sampel yang lainnya yaitu sebesar $4,4 \times 10^2$ koloni/gram sudah melebihi batas standar 1×10^2 koloni. Seluruh hasil pemeriksaan sampel bubur bayi *home industry* mengandung bakteri melebihi batas standar yang dianjurkan oleh Standar Nasional Indonesia, hal tersebut dimungkinkan karena kurangnya tingkat kesadaran penjual terhadap higienitas dalam proses pembuatan ataupun kurang memperhatikan kebersihan lingkungan tempat berjualannya sehingga menyebabkan terjadinya cemaran bakteri. Penyebab lain yang juga bisa menyebabkan terjadinya cemaran bakteri yaitu jeda waktu penyimpanan yang lama hingga bubur bayi diterima oleh konsumen. Serta wadah penyimpanan bubur bayi yang digunakan mungkin kurang terjaga kebersihannya. Jenis wadah yang digunakan juga berbeda-beda pada masing-masing outlet seperti wadah jenis

plastik dan *paper bowl*. Kandungan cemaran bakteri EC yang berlebihan dapat menyebabkan diare. Penelitian yang dilakukan oleh Zakia dkk (2015) pada anak usia 3 bulan sampai dengan usia 7 tahun yang menderita diare terdapat bakteri *Escherichia coli* pada fesesnya. Namun hingga saat penelitian ini dilakukan masih belum ada penelitian tentang bayi atau balita yang mengalami diare karena mengonsumsi bubur bayi *home industry* di wilayah Kabupaten Tulungagung.

4.2 Uji Cemaran Bakteri pada Bubur Bayi Menggunakan Metode MPN

Most Probable Number (MPN) merupakan suatu metode perhitungan mikroorganisme yang menggunakan data dari hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik dalam seri tabung yang ditanam dari sampel padat atau cair berdasarkan jumlah sampel atau diencerkan menurut tingkat seri tabungnya sehingga dihasilkan kisaran jumlah mikroorganisme yang diuji dalam nilai MPN/satuan volume atau massa sampel. Prinsip utama metode ini adalah mengencerkan sampel sampai tingkat tertentu sehingga didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai dan jika ditanam dalam tabung menghasilkan frekuensi pertumbuhan tabung positif (Dhafin, 2017).

Pelaksanaan pengujian bakteri pada metode MPN umumnya menggunakan lebih dari satu tahapan uji dengan lebih dari satu macam media. Tahapan yang dilakukan yaitu tes perkiraan, tes penegasan dan tes pelengkap. Pada tes perkiraan pengujian diawali dengan tahapan penumbuhan selektif untuk memisahkan bakteri EC dari bakteri-bakteri lainnya. Selanjutnya pada tes penegasan, kultur bakteri yang tumbuh pada tes sebelumnya bisa dilakukan penumbuhan dalam media yang dapat mendeteksi bakteri EC secara spesifik. Dan pada tes pelengkap dilakukan untuk memperjelas bahwa bakteri yang tumbuh termasuk bakteri gram positif atau gram negatif dengan ditanamkan pada media agar khusus (Sari, 2014)

4.2.1 Preparasi Sampel

Pada uji MPN langkah pertama yang dilakukan adalah preparasi sampel dengan cara dihaluskan dan ditambahkan dengan larutan pengencer Pepton Dilution Fluid 0,1%. Tujuan dari pengenceran sampel yaitu mengurangi jumlah

kandungan mikroorganisme dalam sampel sehingga dapat mudah untuk diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik dan didapatkan perhitungan yang tepat. Pengenceran sampel memudahkan dalam perhitungan koloni bakteri (Yunita et al., 2015)

Metode MPN dalam penelitian ini menggunakan seri ragam 3-3-3 untuk menganalisis sampel makanan. Maksud dari ragam 3-3-3 yaitu pada setiap pengenceran dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dengan seri pengenceran yang berjumlah 3 sehingga pada pengenceran 10^{-1} menggunakan 3 tabung, pengenceran 10^{-2} menggunakan 3 tabung dan pengenceran 10^{-3} juga menggunakan 3 tabung.

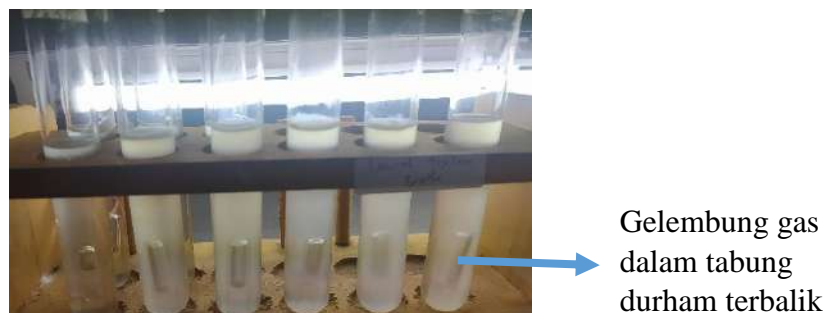
4.2.2 Uji Cemar Bakteri *Escherichia coli*

Pada uji cemar bakteri menggunakan metode MPN sampel yang sudah dipreparasi dilakukan pengujian dalam 3 tahap yaitu :

a. Tes Perkiraan (Presumptive Test)

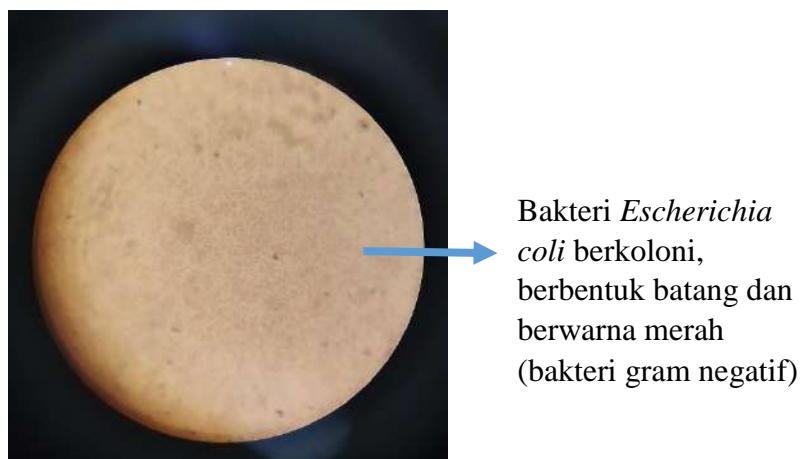
Pada tahap ini dilakukan pemeriksaan awal untuk memperkirakan apakah terdapat bakteri pada sampel dengan cara sampel yang sudah diencerkan dengan seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ditanamkan pada tabung reaksi yang sudah terdapat tabung durham terbalik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Uji dinyatakan positif bila terbentuk gas hasil hidrolisa laktosa oleh enzim bakteri. Tabung durham berfungsi untuk mengetahui apakah terdapat gas yang dihasilkan oleh mikroorganisme.

Media yang digunakan pada tes perkiraan adalah Lauryl Tryptose Broth. Media lauryl tryptose broth mengandung senyawa lauryl sulfat yang berfungsi untuk menghambat pertumbuhan mikroba non *Escherichia coli*. Dapar fosfat dan kandungan nutrisi tinggi yang ada dalam media ini akan mempercepat pertumbuhan bakteri EC dan meningkatkan pembentukan gas (Wahjuningsih et al., 2001).



Gambar 4.3 Hasil Pengujian Tes Perkiraan

Hasil tes perkiraan dapat dilihat pada tabel 4.3. Pada gambar tersebut sudah terlihat hasil positif pertumbuhan bakteri. Namun seluruh hasil yang positif dan negatif dilanjutkan pada tes penegasan untuk mengetahui apakah bakteri yang tumbuh adalah *Escherichia coli*. Sebelum dilanjutkan pada tes penegasan terlebih dahulu dilakukan identifikasi bakteri dengan cara pewarnaan gram. Metode ini digunakan untuk mengetahui jenis bakteri yang tumbuh termasuk bakteri gram positif atau negatif. Jika termasuk bakteri gram positif maka hasilnya akan menunjukkan warna ungu sedangkan jika termasuk bakteri gram negatif maka hasilnya akan berwarna merah. Berikut hasil pewarnaan bakteri pada tes perkiraan.



Gambar 4.4 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Pada Sampel Hasil Tes Perkiraan

Berdasarkan gambar 4.4 hasilnya bakteri berwarna merah sehingga termasuk dalam bakteri gram negatif. Sesuai dengan bakteri EC yang termasuk bakteri gram negatif. Pada pewarnaan gram preparat ditambahkan NaCl fisiologis

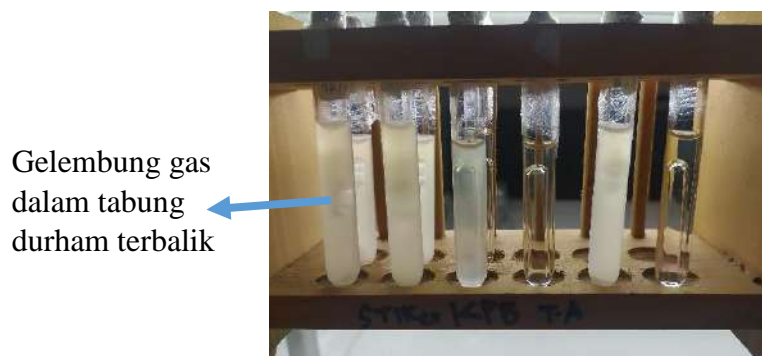
yang berfungsi sebagai perekat. Hasil pewarnaan dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x dan terlihat bakteri yang berbentuk batang, berkoloni dan berwarna merah.

b. Tes Penegasan (Confirmed Test)

Pada tahap ini dilakukan untuk memastikan bahwa koloni bakteri yang tumbuh murni bakteri *Escherichia coli*. Sama seperti pada tes perkiraan menggunakan total 9 tabung reaksi pada setiap sampel yang masing-masing pengenceran terdapat tiga tabung. Untuk media yang digunakan yaitu *Escherichia coli* Broth yang mengandung laktosa, pepton, garam empedu, NaCl, dikalium fosfat, dan monokalium fosfat. Laktosa merupakan sumber karbon utama yang dapat difermentasi bakteri menjadi asam sehingga hanya bakteri yang mampu memfermentasikan laktosa yang dapat tumbuh. Pepton berfungsi sebagai sumber asam amino. Garam empedu yang terkandung dalam media ini akan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Sedangkan dikalium fosfat dan monokalium fosfat berfungsi mengontrol pH dan natrium klorida berperan dalam menjaga keseimbangan osmotik media (Maradesa, 2020)

Bakteri *Escherichia coli* menghasilkan enzim α -D-Glucosidase yang berfungsi sebagai katalisator hidrolisa laktosa membentuk gas, asam dan aldehyd. Gas yang terbentuk dapat diamati dengan tabung durham, sedangkan asam atau aldehyd dengan indikator.

Pengujian ini warna media yang semula berwarna kuning jernih berubah menjadi kuning keruh dengan adanya gas di dalam tabung durham menunjukkan hasil yang positif. Seperti yang ditunjukkan pada gambar 4.4. Pada tes penegasan juga dilakukan pewarnaan gram untuk identifikasi bakteri seperti pada tes perkiraan.



Gelembung gas
dalam tabung
durham terbalik

Gambar 4.5 Hasil Tes Penegasan pada Bubur Bayi *Home Industry*

c. Tes Pelengkap (Completed Test)

Sampel yang menunjukkan hasil positif pada tes penegasan, maka akan dilanjutkan pada tes pelengkap menggunakan media Eosin Methylen Blue Agar untuk memastikan adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Satu ose sampel positif tes penegasan digoreskan pada media EMBA yang sudah memadat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Berdasarkan hasil inkubasi bakteri *Escherichia coli* pada media EMBA hasil positif ditandai dengan adanya warna koloni hijau metalik seperti pada gambar 4.5.



Gambar 4.6 Hasil Tes Pelengkap Sampel Bubur Bayi *Home Industry*

EMBA mengandung laktosa, sukrosa, pepton, eosin Y, dan methylene blue. EMBA disebut sebagai media selektif karena kandungan methylein blue pada media ini bisa menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Gula yang terdapat dalam media, yaitu sukrosa dan laktosa merupakan substrat yang bisa difermentasi oleh sebagian besar bakteri gram negatif, terutama bakteri coliform. Adanya

sukrosa dan laktosa juga bertujuan untuk membedakan antara bakteri coliform yang mampu memfermentasi sukrosa lebih cepat daripada yang tidak dapat memfermentasi sukrosa (Maradesa, 2020)

Bakteri EC umumnya mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam. Kondisi ini membuat media menjadi asam sehingga indikator eosin Y berubah warna dari bening menjadi ungu gelap yang biasanya disertai kilap logam dan jika terduga EC maka akan terbentuk warna hijau metalik pada media EMBA. Bakteri gram negatif lain yang mampu memfermentasi laktosa dengan lambat akan ditunjukkan dengan warna coklat, merah muda, dan bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan terlihat merah muda pudar (Maradesa, 2020)

Tabel 4.3 Hasil Penelitian Bubur Bayi *Home industry* pada Tes Perkiraan, Tes Penegasan dan Tes Pelengkap

Sampel	Hasil Penelitian										
	Tes Perkiraan (Presumptive Test)			Hasil (MPN/g)	Tes Penegasan (Confirmed Test)			Hasil (MPN/g)	Tes Pelengkap (Completed Test)		
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1	1	3	0	16	1	2	0	11	positif	positif	negatif
2	2	1	1	20	2	1	2	27	positif	positif	positif
3	1	2	0	11	1	2	1	15	positif	positif	positif
4	1	0	1	7,2	1	1	1	11	positif	positif	positif
5	2	0	0	9,2	3	0	0	23	positif	negatif	negatif
6	2	1	0	15	2	1	1	20	positif	positif	positif
7	0	1	1	6,1	1	1	0	7,4	positif	positif	negatif
8	0	0	1	3	0	0	0	<3,0 (negatif)	negatif	negatif	negatif
9	2	2	1	28	2	3	1	36	positif	positif	positif
10	2	0	0	9,2	2	0	2	20	positif	negatif	positif

Ket :

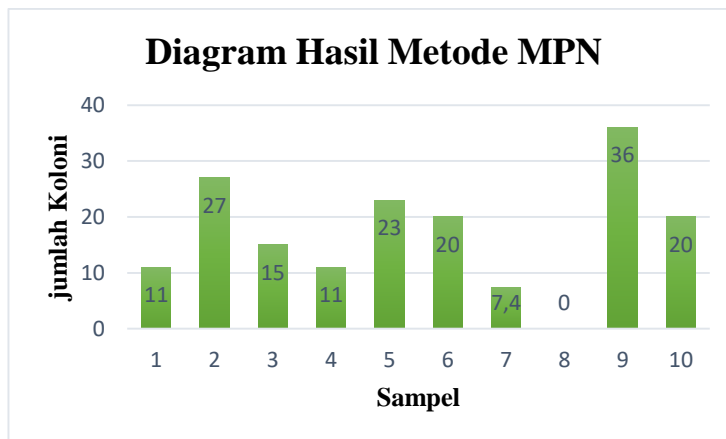
*positif (berwarna hijau metalik)

*negatif (tetap/ungu)

4.2.3 Perbandingan dengan SNI

Hasil yang dibandingkan diperoleh dari tes penegasan (confirmed test). Karena pada tes perkiraan (presumptive test) digunakan untuk memperkirakan adanya bakteri dalam sampel serta dengan digunakannya media lauryl tryptose broth yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri selain *Escherichia coli*.

Sehingga hasil yang diperoleh pada tes penegasan (confirmed test) benar-benar koloni bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 4.7 Diagram Hasil Pemeriksaan Bubur Bayi *Home Industry* dengan Metode MPN pada Tes Penegasan

Berdasarkan gambar 4.6 sampel 9 memperoleh jumlah koloni paling banyak sebesar 36 koloni/gram dibandingkan dengan sampel yang lainnya. Sedangkan pada sampel 8 hanya terdapat sedikit pertumbuhan koloni bakteri atau dapat dikatakan negatif karena hanya terdapat < 3 koloni/gram.

Tabel 4.4 Perbandingan Hasil Pemeriksaan Bubur Bayi *Home industry* dengan SNI

Sampel	Hasil Pemeriksaan (MPN)	Standar (SNI) (MPN/gram)	Keterangan
1	11	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
2	27	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
3	15	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
4	11	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
5	23	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
6	20	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
7	7,4	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
8	$< 3,0$ (negatif)	$< 3,0$ (negatif)	Sesuai standar
9	36	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar
10	20	$< 3,0$ (negatif)	Tidak sesuai standar

Dari hasil perhitungan dibandingkan dengan Standar Nasional Indonesia untuk kandungan *Escherichia coli* dalam MPASI siap santap sebesar negatif/gram. Dan dari 10 sampel hanya pada sampel 8 yang sesuai dengan standar. Pada tabel

MPN jika seluruh tabung yang dilakukan pengujian tidak terdapat pertumbuhan koloni yang ditandai dengan terbentuknya gas dan perubahan warna menjadi keruh maka jumlah koloninya sebanyak <3 koloni/gram. Untuk sampel 7 juga memiliki hasil yang rendah yakni sebesar 7,4 koloni/gram namun hasil tersebut masih lebih besar dari standar yang dianjurkan. Pada sampel 8 yang sesuai dengan SNI dapat dikatakan bahwa layak untuk dikonsumsi, namun hal tersebut jika dilihat dari segi analisis cemaran bakteri *Escherichia coli* sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui apakah masih terdapat bakteri lain yang terdapat dalam bubur bayi *home industry*.

4.3 Analisis Statistik dari ALT dan MPN

Suatu data yang akan dianalisis harus memenuhi kriteria dan persyaratan analisis. Jenis data terbagi menjadi dua yaitu data kualitatif dan kuantitatif. Pada penelitian ini termasuk data kuantitatif sehingga dapat dianalisis dengan statistik deskriptif ataupun statistik inferensial. Untuk statistik deskriptif menyajikan data dalam bentuk tabel diagram, grafik dsb. Sedangkan statistik inferensial mencakup statistik deskriptif serta dapat digunakan untuk melakukan estimasi dan penarikan kesimpulan.

Statistik inferensial dibagi menjadi dua yaitu parametrik dan non parametrik. Statistik parametrik merupakan suatu metode analisis yang digunakan untuk data berskala interval atau rasio yang diambil dari populasi yang berdistribusi normal. Sedangkan statistik non parametrik merupakan suatu metode analisis untuk data berskala nominal dan ordinal yang diambil dari sembarang populasi (tidak berdistribusi normal).

Data dalam penelitian ini termasuk interval sehingga digunakan analisis statistik parametrik. Sehingga perlu diketahui apakah data yang digunakan berdistribusi normal atau tidak. Untuk itu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas data.

Berikut data hasil pengujian normalitas dari sampel bubuk bayi *home industry*.

Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas Sampel Bubur Bayi *Home industry*

Metode Analisis	Uji Sapiro-Wilk	Nilai p-value	Keterangan
ALT	0,281	0,05	Normal
MPN	0,992	0,05	Normal

Hasil uji normalitas pada sampel bubuk bayi *home industry* dari data kelompok metode ALT adalah sebesar 0,246 dan untuk data kelompok metode MPN sebesar 0,992. Jika nilai yang diperoleh lebih dari 0,05 maka data berdistribusi normal dan jika nilai kurang dari 0,05 maka data tidak berdistribusi normal. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat dikatakan bahwa data dari dua kelompok tersebut berdistribusi normal karena memperoleh nilai yang lebih besar dari p-value yaitu 0,05. Untuk pengujian normalitas data menggunakan uji Sapiro-Wilk karena jumlah data atau sampel yang dianalisis kurang dari 30 yaitu sebanyak 10 sampel.

Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas Sampel Bubur Bayi *Home industry*

Metode Analisis	Levene Statistic	Nilai p-value	Keterangan
ALT	0,001	0,05	Tidak Homogen
MPN	0,000	0,05	Tidak Homogen

Pada uji homogenitas jika nilai yang diperoleh $> 0,05$ maka data homogen sedangkan jika nilai yang diperoleh $< 0,05$ maka data tidak homogen. Berdasarkan tabel diatas diperoleh hasil untuk kelompok data dari metode ALT sebesar 0,001 dan MPN sebesar 0,000 nilai tersebut kurang dari nilai p-value sebesar 0,05 sehingga hasilnya data dari dua kelompok tersebut tidak homogen. Setelah diketahui hasil uji normalitas dan homogenitas data maka dapat dilakukan analisis statistik dengan metode Independent T-Test.

Uji T-Test merupakan salah satu metode pengujian dari uji statistik parametrik yang menunjukkan seberapa jauh pengaruh satu variable independent secara individual dalam menerangkan variable dependen. Variabel independen

yang digunakan pada penelitian ini adalah ALT dan MPN, sedangkan variable dependennya adalah SNI. Pengujian t-test ini dilakukan dengan menggunakan tingkat signifikansi sebesar 0,05. Pengujian Independent T-Test dilakukan menggunakan program SPSS versi 23 (Magdalena & Angela Krisanti, 2019). Berikut hasil pengujian Independent T-Test

Tabel 4.7 Hasil Uji Independent T-Test Bubur Bayi *Home industry*

Kelompok data		N	Rata-rata	Sig.	Nilai p-value	Keterangan
ALT	Sampel	10	6,430	0.000	0,05	Ada perbedaan signifikan
	SNI	10	1,000			
MPN	Sampel	10	17,040	0,001	0,05	Ada perbedaan signifikan
	SNI	10	0,000			

Pada uji Independent T-Test digunakan kriteria penerimaan atau penolakan uji hipotesis sebagai berikut :

- a. Jika nilai signifikansi yang diperoleh sampel $> 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) diterima dan hipotesis alternative (H_a) ditolak. Hal tersebut berarti secara parsial variabel independen tidak mempunyai perbedaan yang signifikan terhadap variabel dependen (Magdalena & Angela Krisanti, 2019)
- b. Jika nilai signifikansi yang diperoleh $< 0,05$ maka hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis alternative (H_a) diterima. Hal tersebut berarti secara parsial variabel independen mempunyai perbedaan yang signifikan terhadap variable dependen (Magdalena & Angela Krisanti, 2019)

Berdasarkan tabel 4.7 diperoleh hasil dari kelompok data ALT sebesar $0,000 < 0,05$ sehingga H_0 ditolak dan H_a diterima. Jadi pada kelompok data ALT terdapat perbedaan yang signifikan dengan SNI. Untuk kelompok data MPN sebesar $0,001 < 0,05$ sehingga H_0 ditolak dan H_a diterima. Jadi pada kelompok data MPN juga terdapat perbedaan yang signifikan dengan SNI.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

- 5.1.1 Dari hasil pemeriksaan bakteri pada sampel bubur bayi *home industry* dengan metode ALT. Didapatkan hasil dari 10 sampel yang diujikan semuanya terdapat cemaran bakteri dengan variasi jumlah koloni yang berbeda-beda, hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni yang berwarna merah.
- 5.1.2 Hasil pemeriksaan bakteri patogen *Escherichia coli* pada sampel bubur bayi *home industry* dengan metode MPN yaitu dari 10 sampel yang diujikan hanya ada 1 sampel yang tidak terdapat cemaran bakteri yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan media menjadi keruh dan tidak terdapat gelembung gas.
- 5.1.3 Hasil perbandingan Standar Nasional Indonesia tentang cemaran bakteri MP-ASI siap santap terhadap sampel bubur bayi *home industry* yang beredar di kabupaten Tulungagung yaitu hasilnya untuk metode ALT tidak ada yang sesuai dengan standar sebesar 1×10^2 koloni/gram dari 10 sampel semuanya melebihi batas standar. Sedangkan hasil untuk metode MPN hanya sampel 8 (<3 MPN/gram) yang memenuhi standar cemaran *Escherichia coli* sebesar <3,0 (negatif) MPN/gram.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian masih belum diketahui penyebab cemaran bakteri pada sampel bubur bayi sehingga diharapkan untuk penelitian selanjutnya bisa dilakukan pemeriksaan cemaran bakteri pada kemasan maupun air yang digunakan dalam proses pembuatan. Serta perlunya penyuluhan terkait higiene sanitasi sarana produksi, SDM, dan kemasan yang digunakan. Serta dapat ditambahkan metode IMVIC untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri selain *Escherichia coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. (2006). Prinsip Dasar Ilmu Gizi. Gramedia Pustaka/ Utama: Jakarta
- Almatsier, S. (2008). Penuntun Diet Edisi Baru Instalasi Gizi Perjan RS Dr. Cipto Mangunkusumo dan Asosiasi Dietisien Indonesia. PT Gramedia Pustaka Utama: Jakarta
- Ardhianditto, D., Anandito, B. K., Prananto, N. H. ., & Rahmawati, D. (2013). KAJIAN KARAKTERISTIK BUBUR BAYI INSTAN BERBAHAN DASAR TEPUNG MILLET KUNING (*Panicum sp*) DAN TEPUNG BERAS MERAH (*Oryza nivara*) DENGAN FLAVOR ALAMI PISANG AMBON (*Musa X paradisiaca L*) SEBAGAI MAKANAN PENDAMPING ASI (MP-ASI). *Jurnal Teknosains Pangan*, 2(1), 88–96.
- BPOM. (2012). *Pedoman Kriteria Cemaran pada Pangan Siap Saji dan Pangan Industri Rumah Tangga*.
- Dhafin, A. A. (2017). *Analisis Cemaran Bakteri Coliform Escherichia coli Pada Bubur Bayi Home Industry di Kota Malang Dengan Metode TPC dan MPN*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Elvizahro, L. (2011). Kontribusi MP-ASI Bubur Bayi Instan dengan Substitusi Tepung Ikan Patin dan Tepung Labu Kuning terhadap Kecukupan Protein dan Vitamin A pada Bayi. *Diponegoro University Institutional Repository*.
- Farida, S. N., Ishartani, D., & Affandi, D. R. (2016). Kajian Sifat Fisik, Kimia dan Sensoris Bubur Bayi Instan Berbahan Dasar Tepung Tempe Koro Glinding (*Phaseolus lunatus*), Tepung Beras Merah (*Oryza nivara*) dan Tepung Labu Kuning (*Cucurbita moschata*). *Jurnal Teknosains Pangan*.
- Irianto, K. (2014). Mikrobiologi. Menguak Dunia Mikroorganisme. *Biocelbes*. Yrama Widya
- Kusuma, S. A. F. (2009). *Uji Biokimia Bakteri* (p. 15).
- Magdalena, R., & Angela Krisanti, M. (2019). Analisis Penyebab dan Solusi Rekonsiliasi Finished Goods Menggunakan Hipotesis Statistik dengan Metode Pengujian Independent Sample T-Test di PT.Merck, Tbk. *Jurnal Tekno*, 16(2), 35–48. <https://doi.org/10.33557/jtekno.v16i1.623>
- Maradesa, S. (2020). ANALISIS KANDUNGAN BAKTERI ESCHERICHIA COLI PADA AIR SUMUR GALI DI KECAMATAN LIRUNG KABUPATEN KEPULAUAN TALAUD. *Jurnal Sains, Matematika, Dan Edukasi*, 8(April).
- Moussa, S. H., Tayel, A. A., Al-Hassan, A. A., & Farouk, A. (2013). Tetrazolium/Formazan Test as an Efficient Method to Determine Fungal Chitosan Antimicrobial Activity. *Journal of Mycology*, 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/753692>
- Nurmila, I. O., & Kusdiyantini, E. (2018). Analisis Cemaran Escherichia coli,

- Staphylococcus aureus dan Salmonella sp. pada Makanan Ringan. *Berkala Bioteknologi*.
- Rahmadhani, D., & Sumarmi, S. (2017). Gambaran Penerapan Prinsip Higiene Sanitasi Makanan Di PT Aerofood Indonesia , Tangerang , Banten The Description of Food Sanitation and Hygiene At PT Aerofood Indonesia , Tangerang , Banten. *Open Access under CC BY – SA License*, 291–299. <https://doi.org/10.20473/amnt.v1.i4.2017.291-299>
- Ruga, R. W. P. (2011). *Pengaruh Waktu Pengeringan Terhadap Angka Lempeng Total (ALT) Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.)*.
- Sari, R. (2014). *CEMARAN BAKTERI ESCHERICHIA COLI DALAM BEBERAPA MAKANAN LAUT YANG BEREDAR DI PASAR TRADISIONAL KOTA PONTIANAK*. 2(2), 14–19.
- Saridewi, I., Pambudi, A., & Ningrum, Y. F. (2017). ANALISIS BAKTERI Escherichia coli PADA MAKANAN SIAP SAJI DI KANTIN RUMAH SAKIT X DAN KANTIN RUMAH SAKIT Y. *Bioma*, 12(2), 90. [https://doi.org/10.21009/bioma12\(2\).4](https://doi.org/10.21009/bioma12(2).4)
- Selian LS, Warganegara E, A. E. (2013). *Uji Most Probable Number (MPN) dan Deteksi Bakteri Koliform Dalam Minuman Jajanan yang dijual Di Sekolah Dasar Kecamatan Sukabumi Kota Bandar Lampung*.
- Sundari, S. (2019). Uji Angka Lempeng Total (ALT) pada Sediaan Kosmetik Lotion X di BBPOM Medan. *Biologica Samudra*, 1(1), 25–33. <https://ejournalunsam.id/index.php/jbs/article/view/1524>
- Wahjuningsih, E., Farmasi, F., & Surabaya, U. (2001). *SUBSTRAT KHROMOGENIK-FLUOROGENIK*. 9(2).
- World Health Organization. (2001). Global strategy for infant and young child feeding. *Fifty-Fourth World Health Assembly*, 1, 5.
- Yunita, M., Hendrawan, Y., Yulianingsih, R., Keteknikan, J., Fakultas, P. –, & Kunci, K. (2015). Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (Total Plate Count) Dengan Metode Pour Plate. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis Dan Biosistem*.

Lampiran 1. Tabel Jadwal Penelitian

Jadwal Kegiatan		Tahun 2021 Bulan Ke-					Tempat
		3	4	5	6	7	
1.	Tahap Persiapan						
	a.	Pengajuan izin penelitian di laboratorium	√				Laboratorium Mikrobiologi STIKes Kartrasa
	b.	Persiapan Alat dan Bahan	√				Laboratorium Mikrobiologi STIKes Kartrasa
2.	Tahap Penelitian						
	a.	Pemeriksaan bakteri dengan metode ALT		√			Laboratorium Mikrobiologi STIKes Kartrasa
	b.	Pemeriksaan bakteri patogen <i>Eschericia coli</i> dengan metode MPN			√		Laboratorium Mikrobiologi STIKes Kartrasa
3.	Tahap Penyelesaian						
	a.	Analisis dan Pengolahan Data				√	Laboratorium Mikrobiologi STIKes Kartrasa
	b.	Penyusunan Laporan Akhir				√	Laboratorium Mikrobiologi STIKes Kartrasa
	c.	Pengumpulan Laporan Akhir				√	Prodi S1 Farmasi Kartrasa

Lampiran 2 Surat Keterangan dan Hasil Uji Biokimia Bakteri *Escherichia coli*

Surabaya, 24 Maret 2021

Berikut ini lampiran surat keterangan strain bakteri yang dibeli oleh :

Nama : Monica Vabbella Damayanti
 Institusi : STIKES Karya Putra Bangsa Tulungagung
 Tanggal permintaan : 24 Februari 2021
 Keperluan : Penelitian Tugas Akhir

Keterangan dan Hasil Uji Biokimia bakteri :

Bakteri : *Escherichia coli*
 ATCC : ATCC 25922
 Passage : #4

Hasil Uji Biokimia bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 :

NO	JENIS UJI	HASIL	
1.	Pengecatan Gram	Gram negatif batang	
2.	KIA	Lereng	Acid
		Dasar	Acid
		Gas	Positif
		H ₂ S	Negatif
3.	Glukose	Positif, Gas Positif	
4.	Laktose	Positif, Gas Positif	
5.	Maltose	Positif, Gas Positif	
6.	Mannose	Positif, Gas Positif	
7.	Sukrosa	Negatif	
8.	Indol	Positif	
9.	Methyl Red	Positif	
10.	Voges Proskauer	Negatif	
11.	Simon citrat	Negatif	
12.	Urease	Negatif	
13.	Motility	Positif	
14.	Lysin Decarboxilase	Positif	









Manajemen Sistem
 ISO 9001:2015
 Sertifikasi
 01/2019-01/2021



Lampiran 3. Hasil Penelitian







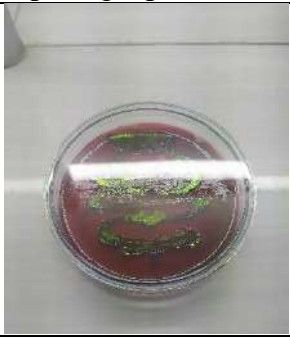
a. Hasil Pemeriksaan Bakteri Pada Bubur Bayi *Home industry* Dengan Metode ALT

Sampel Bubur Bayi dihaluskan dengan menggunakan mortar dan stamfer	Sampel ditimbang sebanyak 1 gram dan ditutup dengan plastic wrap
	
Proses pembuatan media TSA	Petri dish yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu
	
Media yang sudah disterilkan dengan autoklaf	Proses penanaman media dalam autoklaf
	

Sampel yang sudah ditanam, dimasukkan kedalam incubator dan diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 37°C	Sampel yang telah diinkubasi selanjutnya dihitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh
	

b. Hasil Pemeriksaan Bakteri Pada Bubur Bayi *Home industry* Dengan Metode MPN

Sampel bubuk bayi yang akan dilakukan pengujian.	Sampel yang dihaluskan dengan mortar dan stamfer
	
Media dan pengencer yang akan digunakan	Media EMBA untuk tes pelengkap
	

<p>Proses sterilisasi bahan menggunakan autoklaf</p>	<p>Proses sterilisasi alat yang digunakan</p>
	
<p>Hasil tes Perkiraan</p>	<p>Hasil tes Penegasan</p>
	
<p>Tes Pewarnaan yang dilakukan pada hasil tes perkiraan dan tes penegasan untuk identifikasi bakteri E.coli</p>	<p>Hasil tes pewarnaan yang dilihat dari mikroskop</p>
	
<p>Hasil tes pelengkap</p>	
	

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Bahan

a. Perhitungan Bahan Metode ALT

$$1. \text{ Pepton} = \frac{1}{1000} \times 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ gram}$$

$$2. \text{ TSA} = \frac{40}{1000} \times 500 \text{ ml} = 20 \text{ gram}$$

$$3. \text{ Tryphenyl Tetrazolium Chloride } 0,5\% = \frac{0,5 \text{ gram}}{100 \text{ ml}}$$

b. Perhitungan Bahan Metode MPN

$$1. \text{ Pepton} = \frac{1}{1000} \times 100 \text{ ml} = 0,1 \text{ gram}$$

$$2. \text{ Lauryl Tryptose Broth} = \frac{35,6}{1000} \times 500 \text{ ml} = 17,8 \text{ gram}$$

$$3. \text{ Escherichia coli Broth} = \frac{37}{1000} \times 500 \text{ ml} = 18,5 \text{ gram}$$

$$4. \text{ Eosin Metylen Blue Agar} = \frac{36}{1000} \times 200 \text{ ml} = 7,2 \text{ gram}$$

Lampiran 5. Hasil Perhitungan Metode ALT

HASIL PENELITIAN - Excel (Product Activation Failed)

FILE HOME INSERT PAGE LAYOUT FORMULAS DATA REVIEW VIEW FOXIT READER PDF Sign in

Clipboard Font Alignment Number Styles Cells Editing

AA18

HASIL PENELITIAN BUBUR BAYI DENGAN METODE ALT											
Sampel	Hasil Penelitian										Jumlah koloni (koloni/gram)
	0,01		Total	0,001		Total	0,0001		Total		
	A	B		A	B		A	B			
1	295	296	591	122	124	246	28	40	40	877	8,8 x 100
2	286	302	286	130	133	263	27	39	39	588	5,8 x 100
3	310	297	297	134	130	264	29	37	37	598	6,0 x 100
4	260	315	260	138	134	272	38	40	78	610	6,1 x 100
5	219	226	445	126	122	248	33	34	67	760	7,6 x 100
6	273	337	273	142	139	281	40	39	79	633	6,3 x 100
7	305	254	254	111	106	217	22	23	0	471	4,7 x 100
8	241	365	241	108	95	203	21	20	0	444	4,4 x 100
9	360	262	262	146	142	288	47	24	50	600	6,0 x 100
10	295	279	574	123	127	250	44	25	44	868	8,6 x 100

Metode ALT Sheet2 Metode MPN

READY 120%

Lampiran 6. Hasil Analisis Statistik

a. Input Data

IBM SPSS Statistics Processor is ready | Unicode ON

	ALT	MPN	SNI	var	var	var	var	var	var	var	var	var	var	var	var	var	var
1	8.8	11.0	1														
2	5.8	27.0	1														
3	6.0	15.0	1														
4	6.1	11.0	1														
5	7.5	23.0	1														
6	6.3	20.0	1														
7	4.7	7.4	1														
8	4.4	0	1														
9	6.0	36.0	1														
10	8.8	20.0	1														
11	1.0	.0	2														
12	1.0	0	2														
13	1.0	0	2														
14	1.0	.0	2														
15	1.0	0	2														
16	1.0	.0	2														
17	1.0	0	2														
18	1.0	.0	2														
19	1.0	0	2														
20	1.0	.0	2														
21																	
22																	
23																	

Go to Settings to activate Windows.

IBM SPSS Statistics Processor is ready | Unicode ON

	Name	Type	Width	Decimals	Label	Values	Missing	Columns	Align	Measure	Role
1	ALT	Numeric	8	1	Angka Lempen...	None	None	8	Right	Scale	Input
2	MPN	Numeric	8	1	Most Probable	None	None	8	Right	Scale	Input
3	SNI	Numeric	8	0	Standar Nasion...	{1, sampel}	None	8	Right	Scale	Input
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											
15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											

Go to Settings to activate Windows.

b. Uji Normalitas

Tests of Normality^{b,d}

	Standar Nasional Indonesia	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Angka Lempeng Total sampel		.235	10	.125	.910	10	.281
Most Probable Number sampel		.119	10	.200*	.987	10	.992

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

b. Angka Lempeng Total is constant when Standar Nasional Indonesia = standar nasional indonesia. It has been omitted.

d. Most Probable Number is constant when Standar Nasional Indonesia = standar nasional indonesia. It has been omitted.

c. Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Angka Lempeng Total	17.626	1	18	.001
Most Probable Number	19.566	1	18	.000

d. Uji Independent T-Test

Group Statistics

	Standar Nasional Indonesia	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Angka Lempeng Total sampel		10	6.430	1.4795	.4679
Angka Lempeng Total standar nasional indonesia		10	1.000	.0000	.0000
Most Probable Number sampel		10	17.040	10.3931	3.2866
Most Probable Number standar nasional indonesia		10	.000	.0000	.0000

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Angka Lempeng Total	Equal variances assumed	17.626	.001	11.606	18	.000	5.4300	.4679	4.4470	6.4130
	Equal variances not assumed			11.606	9.000	.000	5.4300	.4679	4.3716	6.4884
Most Probable Number	Equal variances assumed	19.566	.000	5.185	18	.000	17.0400	3.2866	10.1352	23.9448
	Equal variances not assumed			5.185	9.000	.001	17.0400	3.2866	9.6052	24.4748