

Bakteri Coliform dalam Es Batu pada Tiga Rumah Makan Ayam Goreng Siap Saji di Bandung

Michael, Philips Onggowidjaja, Djaja Rusmana
Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,
Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Abstract

Some reports have shown that ice cubes may contain Enterobacteriaceae bacteria. This descriptive, observational research aims to analyze the microbiological quality of the ice cubes served at three selected restaurants (1,2,3). Three samples of ice cubes were rinsed with steril water, left melted, and diluted serially. Each diluted sample was inoculated into MacConkey Agar and EMB Agar with pour plate method duplo. The data collected were the number of colonies (interpreted as cfu or colony forming unit) of *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae bacteria. The species of selected colonies were identified by biochemical reactions. The result showed that sample 1 contained 3 cfu/ml *Escherichia coli* and 5 cfu/ml *Pseudomonas* sp. Sample 2 contained 10 cfu/ml *Escherichia coli* and 4 cfu/ml *Pseudomonas* sp., but sample 3 didn't contain *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae bacteria members. It is concluded that ice cubes from restaurant 3 met the requirement for drinking water, whereas those from restaurants 1 and 2 did not.

Keywords: ice cubes, *Escherichia coli*, *Pseudomonas* sp.

Pendahuluan

Es batu merupakan produk pelengkap yang sering disajikan bersama minuman dingin dan dianggap aman untuk dikonsumsi. Dalam masyarakat, es batu dikenal sebagai air yang dibekukan. Pembekuan ini terjadi bila air didinginkan di bawah 0 °C.

Sebuah penelitian yang dilakukan oleh Jasmine Roberts terhadap es batu yang terdapat pada rumah makan siap saji di wilayah Florida Selatan menunjukkan bahwa 70% es batu restoran siap saji mempunyai lebih banyak kuman dibandingkan air toilet.¹ Penelitian yang dilakukan WTHR-Indianapolis News and Weather terhadap 25 sampel es dari bar dan restoran terkenal di Indianapolis menunjukkan 13 dari 25 sampel es tersebut memberikan hasil positif terhadap kontaminasi bakteri coliform.²

Penelitian yang dilakukan Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Institut Pertanian Bogor terhadap proses pembuatan dan distribusi es batu menunjukkan 14 dari 31 sampel es memberikan hasil positif terhadap kontaminasi bakteri coliform dan 3 dari 31 sampel es tersebut memberikan hasil positif terhadap kontaminasi bakteri *Escherichia coli*.³

Terdapat berbagai standar kualitas air minum. Standar kualitas air minum di Indonesia menurut Standar Nasional Indonesia yaitu air minum tidak boleh mengandung bakteri coliform tinja samasekali atau 0 cfu/100 ml dan coliform total maksimal 3 cfu/100 ml.⁴ Menurut Permenkes Keputusan Menteri Kesehatan RI no 907/Menkes/SK/VII/2002 tentang persyaratan dan pengawasan kualitas air minum, kadar *Escherichia coli* harus 0/100 mL air.⁵

World Health Organization (WHO) memberikan standar jumlah *coliform* maupun *E. coli* masing-masing 0 *cfu/ml*.⁵ Menurut Food and Environmental Hygiene Department (FEHD) pemerintah Hongkong, es dalam kemasan yang keluar dari pabrik tidak boleh mengandung *coliform* maupun *E. coli* samasekali (0 *cfu/100 ml*).⁷

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui ada atau tidaknya kontaminasi bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *enterobacteriaceae* lain pada es batu di tiga rumah makan ayam goreng siap saji (1,2, dan 3) dan menentukan apakah es batu tersebut memenuhi syarat untuk dikonsumsi.

Bahan dan Cara

Bahan yang diperlukan adalah medium agar *MacConkey* dan agar EMB (*Eosin Methylene Blue*). Disiapkan pula gelas kimia, tabung reaksi, pipet ukur, dan labu *Erlenmeyer*.

Tahap persiapan penelitian terdiri atas:

1. Sterilisasi alat
Sebelum penelitian dimulai, seluruh alat-alat yang akan digunakan disterilisasi dalam otoklaf (121 °C, 15 menit) atau oven (170 °C, 2jam).
2. Persiapan sampel penelitian
Sampel es batu sebanyak 15 ml dimasukkan ke dalam *Beaker glass*, kemudian ditutup dengan *aluminium foil* yang telah dilewatkan di atas api Bunsen. Es batu dibiarkan mencair pada suhu ruangan.

Pengenceran Berseri

Tabung reaksi sebanyak 7 buah disiapkan. Ke dalam tabung pertama dimasukkan sampel sebanyak 10 ml. Pada tabung ke dua sampai ke tujuh diisi 9 ml akuades steril. Kemudian 1 ml

larutan sampel tabung pertama dimasukkan ke dalam tabung ke dua dan dari tabung ke dua sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung ke tiga. Hal yang sama dilakukan pada tabung-tabung berikutnya sampai dengan tabung ke tujuh.

Pembiakan Bakteri

Setelah pengenceran selesai, langkah selanjutnya adalah pembiakan pada lempeng agar *MacConkey* dan EMB secara duplo. Pembiakan dilakukan dengan cara menuangkan 1 ml hasil tiap pengenceran ke dalam cawan Petri steril kemudian ditambahkan kira-kira 10 ml agar *MacConkey* pada cawan Petri yang satu dan agar EMB pada cawan Petri lainnya (kedua media masih cair, kira-kira bersuhu 50°C). Kedua media ditunggu sampai mengeras, lalu biakan dalam cawan Petri diinkubasi pada 37°C selama semalam.

Pengamatan Hasil Pembiakan Bakteri

Setelah 24 jam, jumlah *cfu* bakteri yang terbentuk dihitung. Pada lempeng agar *MacConkey* dicari bakteri *coliform*, yang tampak sebagai koloni yang berwarna merah atau merah muda. Bakteri tersangka dibiakkan dengan cara *streak plate* di atas lempeng agar *MacConkey* dan EMB yang baru. Pada lempeng agar EMB dicari bakteri *coliform*, yang tampak sebagai koloni berwarna hijau mengkilat. Seluruh biakan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Cara menghitung jumlah koloni untuk suatu sampel adalah sebagai berikut:

$$\text{Jumlah koloni} = \frac{\sum (\text{jumlah koloni}_x \times 10^x)}{n}$$

Keterangan :

jumlah koloni_x = jumlah koloni dalam pengenceran 10^x (syarat: koloni yang

dihitung dalam satu lempeng agar hanya yang berjumlah 30-300 koloni)

10^x = faktor pengenceran

n = jumlah lempeng agar yang dihitung

Identifikasi Bakteri

Setelah pembiakan selama semalam, biakan bakteri dibawa ke laboratorium mikrobiologi PT. Bio Farma Bandung untuk diidentifikasi.

Hasil dan Pembahasan

Jumlah bakteri *enterobacteriaceae* suatu sampel (dibaca sebagai jumlah koloni, diinterpretasikan sebagai *cfu*, *colony forming unit* atau unit pembentuk koloni) yang ditemukan pada sampel es batu yang dibiakkan pada lempeng agar *MacConkey* dan agar EMB dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah Bakteri *Enterobacteriaceae* dalam Sampel Es Batu

No. Sampel	Sumber Es batu	<i>MacConkey</i>	EMB
1	Rumah makan ayam goreng siap saji 1 (1)	3 <i>cfu</i> /ml	5 <i>cfu</i> /ml
2	Rumah makan ayam goreng siap saji 2 (2)	10 <i>cfu</i> /ml	4 <i>cfu</i> /ml
3	Rumah makan ayam goreng siap saji 3 (3)	0 <i>cfu</i> /ml	0 <i>cfu</i> /ml

Keterangan :

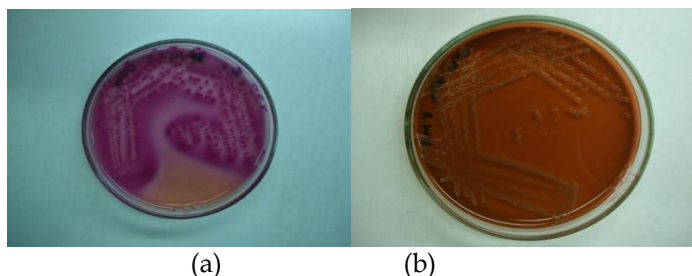
1. Sampel 1 dan 2 merupakan rumah makan ayam goreng siap saji yang menjual produk yang sama tetapi berlainan tempat.
2. Sampel 3 merupakan rumah makan ayam goreng siap saji yang menjual produk yang berbeda dengan produk 1 dan 2.

Hasil pengamatan koloni bakteri dari sampel es batu yang dibiakkan pada agar *MacConkey* dan agar EMB secara makroskopik dapat dilihat pada Gambar 1. Setelah dilakukan pengamatan koloni bakteri dari sampel es batu yang dibiakkan pada agar *MacConkey* dan agar EMB secara makroskopik, maka dilanjutkan dengan pengamatan secara mikroskopik dari koloni bakteri tersebut dengan menggunakan pewarnaan Gram (Gambar 2).

Penggunaan medium agar *MacConkey* dimaksudkan supaya hasil yang tumbuh adalah bakteri gram negatif saja. Medium agar *MacConkey* mengandung garam empedu dan kristal violet yang menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Bakteri gram negatif yang tumbuh pada medium agar

MacConkey dibedakan berdasarkan kemampuan bakteri tersebut memfermentasi laktosa. Bakteri yang dapat memfermentasi laktosa akan memberikan warna merah dan bakteri yang tidak dapat memfermentasi laktosa akan memberikan warna kuning pada medium agar *MacConkey* karena medium agar *MacConkey* mengandung indikator merah netral.⁸

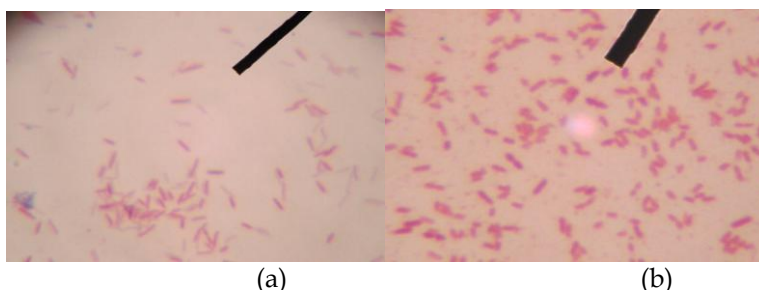
Penggunaan medium agar EMB dimaksudkan untuk membedakan bakteri gram negatif yang tumbuh berdasarkan kemampuan bakteri tersebut memfermentasi laktosa. Medium agar EMB mengandung indikator eosin Y dan biru metilen sehingga bakteri yang dapat memfermentasi laktosa akan memberikan warna koloni hijau metalik.



Gambar 1. Hasil Pengamatan Makroskopik Koloni Bakteri pada (a) Agar *MacConkey* dan (b) Agar *Eosin Methylene Blue* (EMB)

Keterangan :

- (a) terdapat koloni berwarna merah muda dengan permukaan rata
- (b) terdapat koloni tidak berwarna dengan permukaan cembung



Gambar 2. Hasil Pengamatan Mikroskopik Koloni Bakteri pada (a) Agar *MacConkey* dan (b) Agar *Eosin Methylene Blue* (EMB)

Keterangan :

- (a) terdapat bakteri batang gram negatif
- (b) terdapat bakteri batang pendek gram negatif

dan bakteri yang tidak dapat memfermentasi laktosa akan memberikan warna koloni bening atau tidak berwarna.⁹

Pada hasil identifikasi bakteri ditemukan adanya bakteri *Escherichia coli* pada lempeng agar *MacConkey* dan *Pseudomonas sp.* pada lempeng agar EMB. Bakteri *Escherichia coli* termasuk bakteri gram negatif sehingga dapat tumbuh pada medium agar *MacConkey*. Bakteri *Pseudomonas sp.* termasuk bakteri gram negatif yang tidak dapat memfermentasi laktosa sehingga tumbuh sebagai koloni tidak berwarna atau bening pada medium agar EMB.

Escherichia coli adalah flora normal saluran pencernaan manusia, dapat menyebabkan penyakit pada keadaan tertentu saja. Sementara itu, *Pseudomonas* tersebar di tanah dan air. *Pseudomonas aeruginosa* membentuk koloni pada manusia dan menjadi patogen (termasuk bakteri yang menyebabkan infeksi saluran kemih), dan bersifat motil.¹⁰

Adanya kontaminasi dari bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp.* dapat disebabkan oleh es batu yang berasal dari air yang terkontaminasi bahan yang mengandung bakteri tersebut. Pada proses pengolahan dan penyajian

es batu, es batu tersebut dapat terkontaminasi bakteri yang berasal dari alat pembuat es batu, alat penyimpanan es batu, maupun pegawai yang menyajikan es batu tersebut.

Simpulan

Es batu yang berasal dari sampel 1 dan sampel 2 mengandung bakteri *Escherichia coli* dan *Pseudomonas sp.*, sedangkan sampel 3 tidak mengandung bakteri coliform apapun. Berdasarkan Permenkes no 907 tahun 2002, es batu sampel 1 dan 2 tidak memenuhi syarat untuk dikonsumsi, sedangkan sampel 3 memenuhi syarat.

Saran

Walaupun sampel es batu yang digunakan pada penelitian ini mengandung bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *enterobacteriaceae* lainnya, namun perlu dilakukan survei terhadap kontaminasi bakteri dalam es batu di tempat lain. Perlu juga dilakukan peningkatan kualitas sanitasi dari sumber air yang digunakan pada pembuatan es batu untuk mengurangi kontaminasi bakteri dalam es batu. Selain itu, perlu dilakukan peningkatan kualitas sanitasi dalam proses pengolahan dan penyajian es batu yang meliputi: alat pembuat es batu, tempat penyimpan es batu maupun higiene pegawai/petugas yang berkaitan.

Daftar Pustaka

1. Do you know: es batu lebih kotor ketimbang air toilet. Lampung Post. 2006 [cited 2008 Oct 5]. Available from: <http://www.lampungpost.com/cetak/berita.php?id=2006030901434848>
2. Sheegal B. Hold the ice. 2008 [cited 2008 Dec 14]. Available from: <http://www.wthr.com/global/story.asp?S=7803915>.
3. Antung SF. Evaluasi bakteri indikator sanitasi. [cited 2009 Jan 2]. Available from: <http://web.ipb.ac.id/~lppm/ID/index.php?view=jurnal/detail2JIP&volume=11&no=2&id=91>.
4. Lablink. Standar kualitas air di perairan umum. 2008 [cited 2008 Oct 7]. Available from: <http://www.lablink.or.id/Eny/Hidro/air-qua.htm>.
5. Pusat Penelitian Kimia LIPI. Kadar *E. coli* harus 0 per 100 mililiter air. 2010 [cited 2010 March 25]. Available from: <http://www.lipi.go.id/www.cgi?berita&1262994117&&2009&1036006740>
6. WHO. WHO guidelines of drinking-water quality vol 1. 3rd ed. 2004 [cited 2008 Dec 14]. Available from: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/GDWQ2004web.pdf.
7. Food and Environmental Hygiene Department (FEHD). The microbiological quality of edible ice from ice manufacturing plants and retail businesses in Hong Kong. 2005. The government of Hong Kong special administrative region.
8. Port. MacConkey's Agar (MAC) bacterial growth medium: differential and selective medium to grow gram-negative bacteria. [cited 2009 July 19]. Available from: http://microbiology.suite101.com/article.cfm/macconkeys_agar_mac_bacterial_growth_medium.
9. Acumedia. Eosin Methylene Blue Agar, Levine (7103). Rev 2. [cited 2008 Oct 5]. Available from: http://www.neogen.com/Acumedia/pdf/ProdInfo/7103_PI.pdf.
10. Brooks G F, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology. 23rd edition. United States: The McGraw-Hill Companies Inc., 2004.