

Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* Jajanan Pasar Girian Kota Bitung

Marsanda Tandiapa¹, Helen J. Lawalata², Anita C. Tengker³, Herry M. Sumampouw⁴,
Wiesye M. S. Nangoy⁵

^{1,2,3,4,5}Jurusan Biologi, FMIPAK, Universitas Negeri Manado, Indonesia

E-mail: sandatandipa24@gmail.com

Article History:

Received: 20 Mei 2024

Revised: 01 Juni 2024

Accepted: 03 Juni 2024

Keywords: *Escherichia coli*,
Minumam Boba, Kue Pukis,
Molen, MPN, Jajanan Pasar,
Isolasi, Identifikasi

Abstract: *Jajanan (street food) merupakan makanan dan minuman yang dibuat oleh pedagang kaki lima dan dijual di sekolah, pasar dan tempat-tempat umum lainnya. Makanan dan minuman menjadi aspek penting dalam kehidupan manusia. Bakteri Escherichia coli merupakan salah satu bakteri yang ada dalam makanan dan minuman. Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri Escherichia coli jajanan Pasar Girian Kota Bitung. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode deskriptif kualitatif. Sampel yang digunakan sebanyak 3 sampel jajanan (minuman boba, kue pukis dan molen), masing-masing sampel diambil dari tempat dan penjual yang berbeda di Pasar Girian. Pengujian dilakukan menggunakan metode Most Probable Number (MPN) seri 5-5-5 dengan 3 pengenceran (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Sampel di ujikan ke dalam media Lauryl Tryptose Broth (LTB) kemudian dilanjutkan ke media Ec Broth, dan kemudian dilakukan penanaman bakteri pada media Eosin Metyle Blue Agar (EMBA), dilakukan pewarnaan gram pada setiap sampel positif dan uji biokimia. Hasil dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ke tiga sampel yang diperdagangkan di Pasar Girian Kota Bitung positif terkontaminasi oleh bakteri Escherichia coli. Jumlah cemaran terbesar terdapat dalam sampel minuman boba yaitu sebesar >160 MPN/gr.*

PENDAHULUAN

Jajanan (*street food*) merupakan makanan dan minuman yang dibuat oleh pedagang kaki lima dan dijual di tepi jalan, sekolah, pasar dan tempat-tempat umum lainnya. Makanan dan minuman menjadi aspek penting dalam kehidupan manusia (Acharya, 2023). Manusia tidak dapat hidup tanpa adanya makanan dan minuman (Anderson dkk., 2005). Makanan dan minuman merupakan sumber energi yang dapat memelihara dan membantu pertumbuhan serta perkembangan tubuh manusia (Feng, 2015). Makanan dan minuman yang aman adalah makanan dan minuman yang higienis dan bergizi, mengandung protein, vitamin dan mineral, agar makanan aman dan dapat dikonsumsi oleh masyarakat (Kemenkes RI, 2023). Makanan dan

minuman sebagai sumber energi dan gizi juga dapat menyebabkan gangguan kesehatan bagi tubuh manusia (Hamilatun & Aminah, 2016).

Jajanan dibuat dengan beragam cita rasa, bentuk dan warna yang berbeda-beda sehingga membuat masyarakat tertarik untuk membeli dan mengkonsumsinya. Berbagai inovasi-inovasi baru digunakan penjamah jajanan dalam pembuatan olahan jajanan untuk semakin menarik perhatian konsumen (Keper dkk., 2004; Halim dkk., 2017). Jajanan dapat menjadi sumber energi bagi manusia karena mengandung berbagai bahan yang bermanfaat bagi tubuh (Lazuardi, 2008; Kartikasari dkk., 2019). Jajanan dapat mengandung berbagai vitamin yang bermanfaat memberikan energi dan nutrisi bagi tubuh (Manning, 2010; Kurniadi dkk., 2013). Akan tetapi, selain dapat memberikan dampak positif, jajanan juga dapat memberikan dampak negative (Kemenkes RI, 2003). Ada beberapa jajanan yang diolah secara sembarangan dan dibuat serta dijual ditempat yang tidak sehat atau kotor sehingga dapat terkontaminasi dengan berbagai macam bakteri dan virus sehingga menyebabkan gangguan kesehatan pada tubuh manusia (Maimunah dkk., 2020; Misrofah & Purwantisari, 2021).

Kontaminasi juga dapat disebabkan oleh faktor lingkungan tempat berjualan yang tidak sesuai, dari peralatan yang digunakan, serangga, udara dan kontaminasi silang antara penjual dan pembeli. Salah satu bakteri yang dapat mengontaminasi jajanan yaitu *Escherichia coli* (Pawloski dkk., 2009). Jajanan yang aman harus memenuhi beberapa syarat seperti: tidak mengandung gula, garam dan lemak berlebihan, tidak mengandung MSG berlebih, tidak ada zat pengawet berbahaya, dan memiliki nilai gizi yang seimbang (Rahayu dkk., 2021). (Kemenkes RI, 2023). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1096/Menkes/Per/VI2011 yang mensyaratkan dalam makanan dan minuman cemaran bakteri *Escherichia coli* yaitu nol per gram (negatif) (Rahayu & Gumilar, 2017).

Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang ada dalam makanan dan minuman yang terkontaminasi. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, dan umumnya terdapat dalam alat pencernaan manusia dan hewan (Rizki dkk., 2013; Walid dkk., 2021). Bakteri *Escherichia coli* dapat dengan mudah berpindah dari tangan kemulut, lewat makanan, minuman, dan lainnya. Bakteri ini memiliki bentuk seperti batang, bersifat gram negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora (Yang dan Wang 2014; Wardani & Setyaningrum, 2020). *Escherichia coli* dapat masuk melalui mulut manusia dan dapat menyebabkan beberapa gangguan kesehatan seperti diare, kholera, disentri dan berbagai penyakit saluran pencernaan lainnya (Kurniadi dkk., 2013). Sebanyak 100.000 balita meninggal per tahun akibat diare yang disebabkan oleh bakteri ini (Halim *et al.*, 2017). Salah satu jenis *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan penyakit bagi manusia yaitu *diarrheagenic E. coli* (DEC) terdiri dari enam jenis, yaitu enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), *enteropathogenic E. coli* (EPEC), *enterohemorrhagic E. coli* (EHEC), *enteroinvasive E. coli* (EIEC), *enteroaggregative E. coli* (EAEC), dan *diffusely adherent E. coli* (DAEC) (Kaper dkk., 2004; Yang & Wang, 2014).

Bakteri *Escherichia coli* dibedakan menjadi 3 kelompok berdasarkan interaksinya dengan manusia (inang), yaitu non pathogen (komensal), pathogen saluran pencernaan, dan pathogen di luar saluran pencernaan. Kontaminasi *Escherichia coli* pada makanan dapat terjadi melalui dua cara yaitu kontaminasi langsung dan kontaminasi tidak langsung (silang) (Saridewi dkk., 2016). Berdasarkan penjelasan diatas maka dilaksanakan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada jajanan Pasar Girian Kota Bitung.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2023 – bulan Desember 2023 dimulai dari penyusunan proposal, pengambilan sampel yang bertempat di pasar Girian Kota Bitung dan dilanjutkan dengan penelitian di Laboratorium Balai Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit (BTKLPP) Kelas 1 Manado.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode deskriptif kualitatif Metode deskriptif adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi atau menganalisis suatu hasil penelitian.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: Autoklaf, inkubator, oven, cawan petri, pipet ukur, gelas ukur, hot plate, tabung reaksi, erlenmeyer, jarum ose, tabung Durham, mikroskop, preparat (objek gelas), kertas lebel, beaker glass, bunsen, pengaduk, timbangan digital, mortal dan alu, korek api, rak tabung, magnetic stirrer, kapas, minyak immerse, tisu, handscoon, masker, mikropipet. Sedangkan bahan penelitian antara lain: Sampel Jajanan (minuman boba, kue pukis dan molen), *Media Lauryl tryptose broth* (LTB), *EC Broth*, *Bufer Peptone Water* (BPW), *Eosin Metylen Blue Agar* (EMBA), Larutan Lugol, Sefranim, Aseton, Larutan kristal violet, aquades, imvic (indol, methyl red, voges proskauer, sitrat), reagen kovac, reagen KOH, serbuk gula-gula, *Triple sugar iron agar* (TSIA).

Populasi dalam penelitian ini adalah jajanan Pasar Girian, Kota Bitung. Sampel yang digunakan yaitu 3 sampel jajanan (minuman boba, kue pukis dan molen). Pengambilan sampel dalam penelitian ini menggunakan metode *simple random sampling*, yaitu pengambilan sampel secara acak sederhana. Sampel akan diambil pada 3 tempat dan penjamah jajanan berbeda di Pasar Girian Kota Bitung.

Penelitian ini akan menggunakan dua Teknik pengumpulan data, yaitu metode observasi dan metode dokumentasi. Metode observasi (pengamatan) digunakan untuk mengamati pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* pada sampel dan metode dokumentasi digunakan untuk mendokumentasikan hasil penelitian berupa gambar. Data yang diperoleh akan dianalisa secara manual dan disajikan dalam bentuk tabel dan gambar serta akan dideskripsikan dalam bentuk narasi untuk melihat cemaran bakteri *Escherichia coli* pada jajanan Pasar Girian Kota Bitung.

Sampel diuji di laboratorium menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) seri 5-5-5. Dan dilanjutkan dengan pewarnaan gram serta uji biokimia. *Most Probable Number* (MPN) merupakan metode tabung ganda untuk menghitung perkiraan jumlah bakteri. Prinsip metode ini yaitu dengan mengencerkan sampel sampai pada tingkat tertentu sehingga didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai (Rizki Zuriani M. S., 2013).

1. Pengenceran

Sampel jajanan yang akan diujikan ditimbang sebanyak 25 gr. Sampel kemudian dihaluskan dan dicampurkan bersama BPW sebanyak 225 ml yang telah disterilkan kemudian homogenkan. Siapkan 3 tabung reaksi bersisi BPW 9 ml. Pada pengenceran pertama (10^{-1}) tuangkan sebanyak 1 ml sampel yang telah di homogenkan sebelumnya, kemudian pada pengenceran yang ke dua (10^{-2}) tuangkan 1 ml sampel dari pengenceran pertama. Selanjutnya lakukan hal yang sama pada pengenceran ke tiga (10^{-3}). (Saridewi, Pambudi, & Ningrum, 2016).

2. Uji Pendugaan (*presumptive test*)

Siapkan 15 tabung media *Lauryl Tryptose Broth* (LTB) yang sudah disterilkan dan berisi tabung Durham untuk pengenceran bertingkat. Pada setiap tabung seri pertama di beri 1 ml sampel dari pengenceran 1 (10^{-1}), kemudian dihomogenkan. Selanjutnya untuk seri tabung kedua diberikan 1 ml sampel dari pengenceran ke dua (10^{-2}), dan kemudian pada seri tabung ke tiga diberikan 1 ml sampel dari pengenceran ke tiga (10^{-3}).

Homogenkan dan inkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. (Saridewi, Pambudi, & Ningrum, 2016).

3. Uji Penegasan (*confirmed test*)

Hasil sampel yang telah diinkubasi kemudian diperiksa apakah terdapat gas (gelembung) pada tabung Durham. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui positif atau negatifnya sampel. Selanjutnya jika sampel positif pada tes perkiraan dilanjutkan dengan memasukkan sampel positif kedalam tabung berisi media EC *Broth* dengan tabung Durham yang sudah disterilkan untuk uji bakteri *Escherichia coli* dengan banyak tabung sesuai dengan jumlah hasil positif pada uji sebelumnya. Tuangkan 1 ml sampel hasil uji sebelumnya pada tabung berisi media EC *Broth* kemudian homogenkan. Inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C (Saridewi, Pambudi, & Ningrum, 2016).

4. Uji Pelengkap (*complete test*)

Hasil positif pada media EC *Broth* kemudian ditumbuhkan pada media EMBA. Media EMBA adalah media selektif dan diferensial yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri. Dari hasil positif pada media EC *Broth* goreskan sebanyak 1-3 ose ke media EMBA. Sampel diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 44°C. Hasil positif ditandai dengan penampakan fisik warna hijau metalik (Saridewi, Pambudi, & Ningrum, 2016).

5. Identifikasi Bakteri Dengan Pewarnaan Gram

Bakteri yang telah tumbuh dimedia EMBA akan dilakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram diawali dengan pembuatan preparat terlebih dahulu dari bakteri yang digunakan. Preparat diperoleh dari 1-3 ose biakan positif media EMBA. Fiksasi preparat di atas api bunsen sebanyak 2 kali. Selanjutnya preparat diberi tetesan larutan kristal violet (gram 1) dan diamkan selama 1 menit lalu bersihkan di atas air mengalir dan diamkan sampai kering. Kemudian teteskan larutan lugol (gram 2) diamkan selama 1 menit dan bersihkan di atas air mengalir dan keringkan. Setelah kering, teteskan aseton (gram 3) pada seluruh permukaan preparat diamkan selama 10 detik kemudian bersihkan kembali dengan air mengalir lalu keringkan. Teteskan safranin (gram 4) dan diamkan selama 1 menit lalu bersihkan kembali di atas air mengalir dan keringkan preparat di atas tisu. Beri minyak immersi dan lakukan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x (Saridewi, Pambudi, & Ningrum, 2016).

6. Identifikasi Koloni Bakteri dengan Uji Biokimia (IMVIC)

a. Fermentasi karbohidrat

Ambil koloni kuman dengan menggunakan jarum ose, lalu masukkan koloni pada uji gula-gula dan homogenkan agar bakteri menyebar. Kemudian inkubasi selama 24 jam dengan suhu 35°C. Lakukan pengamatan dengan melihat warna media uji. Hasil positif (+) jika warna media berubah menjadi warna kuning yang menandakan keadaan asam dengan atau tanpa pembentukan gas pada tabung Durham.

b. SIM (Sulfide Indole Motility)

Ambil koloni pada media EMBA dengan jarum ose, lalu tusuk lurus pada media uji SIM selanjutnya inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Amati perubahan dengan memberikan 1 tetes larutan Kovach pada tabung, hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada media sedangkan motility dilihat berdasarkan adanya kekeruhan disekitar tusukan yang berarti positif.

c. MR-VS

Tusukkan koloni bakteri dari media EMBA pada tabung uji MR-VP, kemudian homogenkan dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Amati perubahan yang terjadi

setelah memberikan 1 tetes reagen methyl red pada tabung MR dan 1 tetes reagen KOH pada tabung VP. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah yang menunjukkan keadaan asam.

d. Uji Sitrat

Oleskan koloni bakteri pada media EMBA menggunakan jarum, oleskan pada bagian lempeng media sitrat dan inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C . Amati perubahan pada warna media, hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna pada media menjadi biru yang menandakan adanya perubahan pH.

e. TSIA

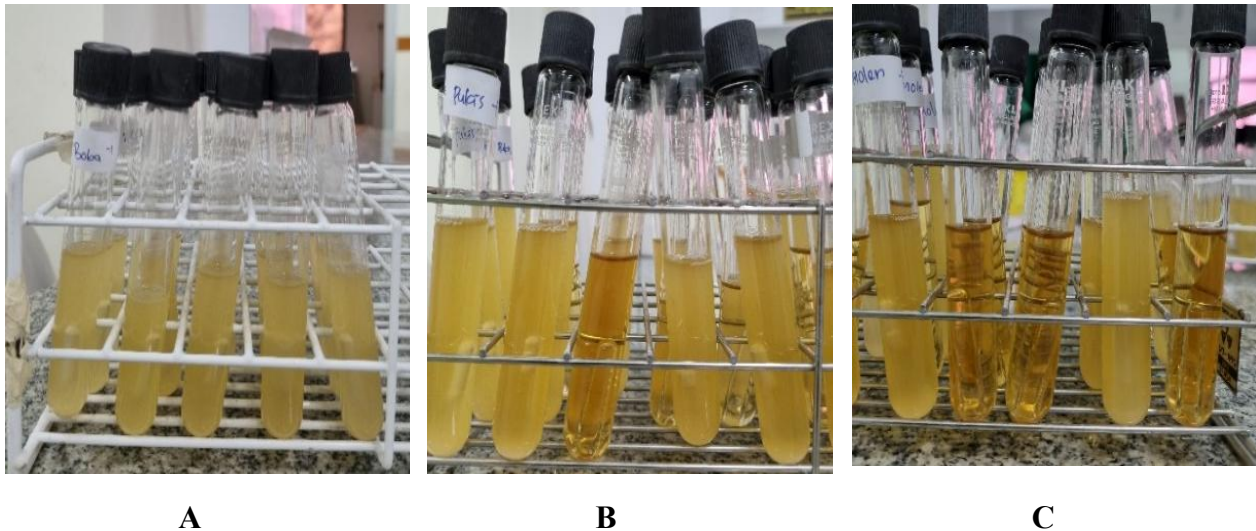
Koloni kuman dari media EMB diambil menggunakan jarum ose, lalu masukkan koloni dengan cara tusuk lurus (stab) dan diratakan pada bagian lempengnya, kemudian di inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C . Amati perubahan pada warna media, hasil (+) dengan adanya perubahan pada media menjadi kuning yang menandakan kondisi asam dan negatif (-) tetap berwarna merah yang menandakan kondisi basa, dan warna hitam menandakan terbentuknya gas H_2S .

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Jajanan Pasar Girian Kota Bitung dilakukan dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dan dilanjutkan dengan pewarnaan gram bakteri dan uji biokimia untuk mengidentifikasi bakteri. Pengujian diawali dengan pengambilan sampel pada 3 tempat dan penjual berbeda yang ada di Pasar Girian Kota Bitung menggunakan teknik *Simple Random Sampling* kemudian sampel diujikan di laboratorium. Pada penelitian ini semua sampel didapat dari penjual dengan kondisi terbuka, sehingga terdapat kemungkinan adanya kontaminasi bakteri pada sampel.

Kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada makanan umumnya terjadi karena kurangnya kesadaran penjual akan kebersihan dalam menyiapkan dan menyajikan makanan. Penjual tidak menerapkan perilaku hidup bersih dan sehat sehingga dapat terjadi kontaminasi silang melalui tangan atau peralatan dan bahan yang digunakan. Faktor lain yang dapat mengakibatkan terkontaminasinya makanan terhadap bakteri biasanya melalui lingkungan berjual yang kurang strategis dan kontaminasi silang antara penjual dan pembeli.

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang dan berwarna merah atau merah muda. Pada penelitian ini pengujian di laboratorium diawali dengan proses pensterilisasian alat dan bahan yang akan digunakan dengan autoklaf (sterilisasi basah) dan oven (sterilisasi kering). Penelitian ini menggunakan metode MPN seri 5-5-5 dengan 3 pengenceran (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}). Uji pendugaan merupakan tahap awal pengujian sampel menggunakan metode MPN, uji ini digunakan untuk mengetahui adanya keberadaan bakteri pada sampel. Pada uji ini sampel di uji menggunakan media *Lauryl Tryptose Broth* (LTB). Sampel diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C .



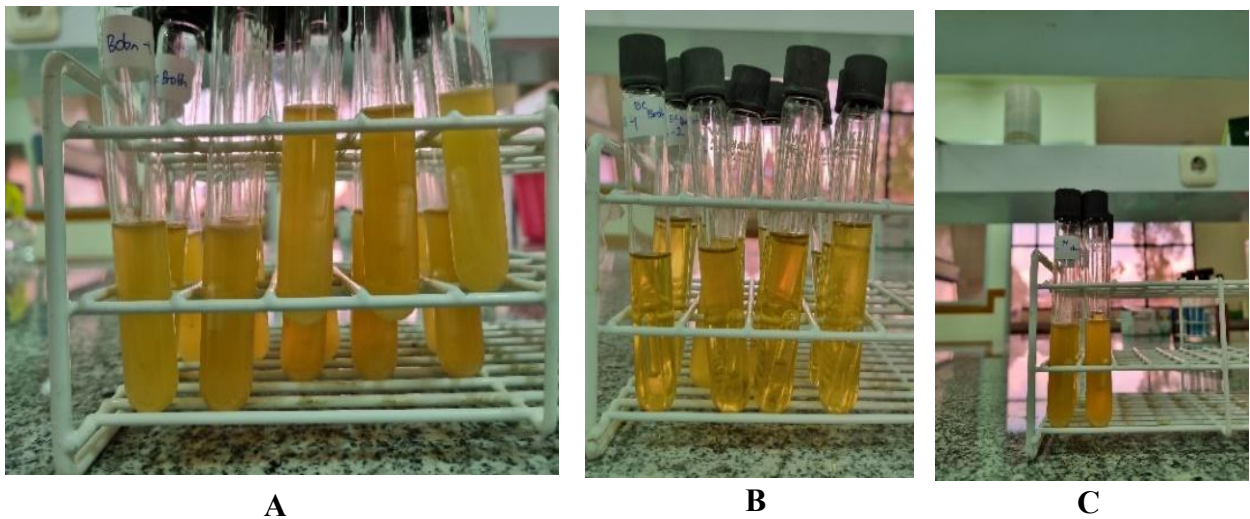
Gambar 1. Hasil Uji Pendugaan Sampel Minuman Boba (A), Sampel Kue Pukis (B) dan Sampel Molen (C)

Hasil uji terhadap ke 3 sampel menunjukkan hasil positif. Ke 3 sampel menunjukkan adanya perubahan warna kuning menjadi kuning keruh dan terbentuknya gas (gelembung) dalam tabung Durham. Dalam gambar 1 menunjukkan hasil positif pada sampel minuma boba yaitu 5-5-5, pada sampel kue pukis 4-4-2 sedangkan pada sampel molen hasil positifnya yaitu 2-1-2.

Tabel 1. Uji Pendugaan Sampel Pada Media LTB

Jenis Sampel	Hasil TabuNg Positif			Ket.
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
Minuman Boba	5	5	5	Lanjut
Kue Pukis	4	4	2	Lanjut
Molen	2	1	2	Lanjut

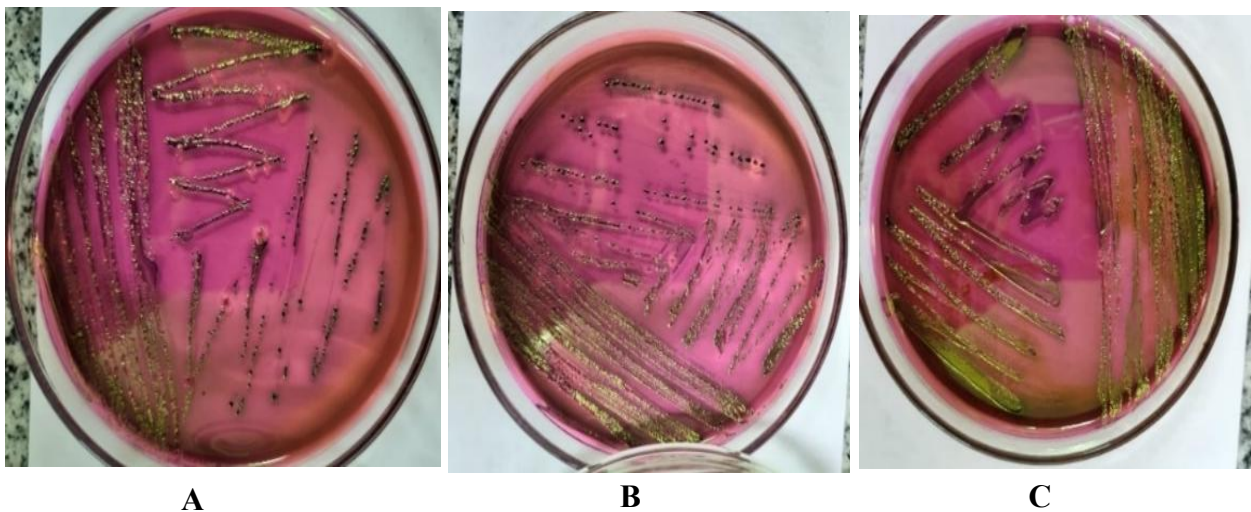
Uji penegasan dilakukan dengan menggunakan media *EC Broth*. Uji ini dimaksudkan untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh ialah murni bakteri *Escherichia coli*. Pada tahap ini sampel diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37° . Setelah diinkubasi sampel menunjukan tanda positif dengan perubahan warna yang mengkeruh dan terbentuknya gas dalam tabung Durham. Hasil positif pada uji penegasan sama dengan hasil pada uji pendugaan gambar 2.



Gambar 2. Hasil Uji Penegasan Sampel Minuman Boba (A), Sampel Kue Pukis (B) dan Sampel Molen (C)

Tabel 2. Uji Penegasan Sampel Pada Media EC *Broth*

Jenis Sampel	Hasil Tabung Positif			Ket.
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
Minuman Boba	5	5	5	Lanjut
Kue Pukis	4	4	2	Lanjut
Molen	2	1	2	Lanjut



Gambar 3. Hasil Uji Pelengkap Sampel Minuman Boba (A), Kue Pukis (B) dan Molen (C) pada Media EMBA

Tabel 3. Identifikasi Bakteri Berdasarkan Warna Koloni yang Dihasilkan

Jenis Sampel	Media EMBA	Ket.
Minuman Boba	Koloni bakteri berwarna hijau metalik (hijau kilap logam)	Positif
Kue Pukis	Koloni bakteri berwarna hijau metalik (hijau kilap logam)	Positif
Molen	Koloni bakteri berwarna hijau metalik (hijau kilap logam)	Positif

Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) adalah jenis agar yang bersifat selektif dan diferensial. Mengandung eosin dan metilen biru, yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Media ini berfungsi sebagai alat pemisahan bakteri gram negatif dan penentuan identitas bakteri (Jamilatum M, 2016). Ketika bakteri *Escherichia coli* dimasukkan ke dalam media EMBA, mereka membentuk koloni berwarna ungu kehitaman atau hijau metalik. Media EMBA menyertakan laktosa untuk membedakan kelompok bakteri yang memiliki kemampuan memfermentasi laktosa dengan cepat. *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri yang dapat memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam dalam jumlah besar, sehingga menghasilkan warna hijau metalik yang khas (disebut kilau logam hijau). Selain *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* merupakan jenis bakteri lain yang mampu memfermentasi laktosa, meski tidak secepat *Escherichia coli*. *Enterobacter aerogenes* menunjukkan kemampuan produksi asam yang terbatas, sehingga menghasilkan pembentukan koloni berwarna merah muda daripada hijau metalik, sesuai dengan spesifik asam yang dihasilkan.

Uji pelengkap dilakukan untuk mengidentifikasi dan isolasi. Uji ini dilakukan dengan menanamkan hasil positif pada media EC Broth sebanyak 1-3 ose ke media EMBA. Penanaman dilakukan dengan cara menggoreskan hasil positif pada media EMBA yang memadat. Sampel kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 44⁰c. Hasil positif media EMBA ditandai dengan perubahan warna hijau metalik. Dari hasil identifikasi ke 3 sampel yang telah diujikan menggunakan media EMBA menunjukkan bahwa pada ke 3 sampel koloni bakterinya berwarna hijau metalik dan hitam keunguan yang menunjukan bahwa ke 3 sampel positif terpapar bakteri *Escherichia coli*. Berbeda dengan penelitian serupa yang dilakukan oleh (Saridewi, Pambudi, & Ningrum, 2016), melakukan penelitian terhadap makanan kantin rumah sakit X dan rumah sakit Y dengan jumlah 34 sampel hanya 1 sampel yang dinyatakan positif. Bereda halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh (Walid, Afiah, & Ismail, 2021) pada 6 sampel makanan di rumah makan di lingkungan kampus. Dari ke 6 sampel makanan hanya 3 sampel yang dinyatakan terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli*.

Tabel 4. MPN Seri tabung 5-5-5

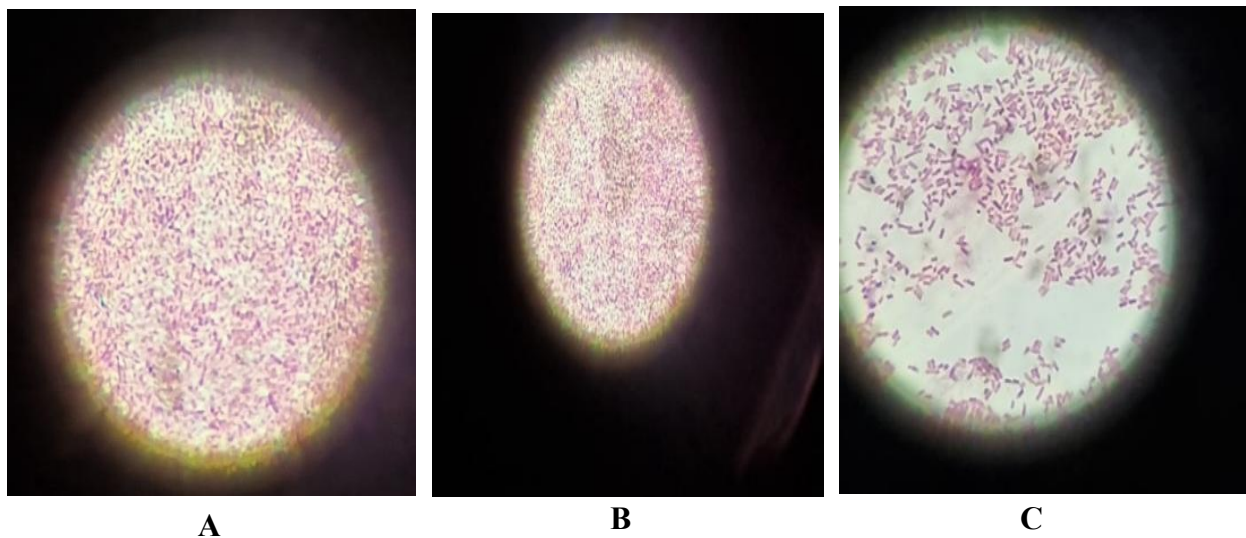
Jenis Sampel	Jumlah Hasil Positif			<i>Escherichia coli</i> MPN/gr
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
Minuman Boba	5	5	5	>160
Kue Pukis	4	4	2	4,7

Molen	2	1	2	1,2
-------	---	---	---	-----

Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1096/Menkes/Per/VI2011 yang mensyaratkan dalam makanan dan minuman cemaran bakteri *Escherichia coli* yaitu nol per gram (negatif). Dari hasil penelitian yang dilakukan terhadap 3 sampel jajanan, ke 3 sampel jajanan tersebut dinyatakan terpapar oleh bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan table 4.4 diperoleh hasil MPN dari sampel minuman boba sebesar >160 MPN/gr, sampel kue pukis 4,7 MPN/gr dan sampel molen 1,2 MPN/gr.

Penelitian lain dilakukan oleh Maimunah, S., Sianipar, A. Y., & Thaib, C. M. (2020) melakukan penelitian lain tentang analisis bakteri *Escherichia coli* pada jajanan minuman sekitar jalan Kota Medan dengan metode MPN diperoleh hasil positif dari ke 4 sampel yang diujikan jumlah bakteri *Escherichia coli* yang ditemukan dalam sampel melebihi batas yang telah ditentukan. Hasil nilai MPN pada sampel A sebesar 2.800mpn/gr/ml, sampel B dan sampel C sebesar 1.100mpn/gr/ml, sampel D sebesar 400mpn/gr/ml.

Pada penelitian ini setelah bakteri diisolasi pada media EMBA, maka dapat diketahui bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Escherichia coli* dengan mengamati proses pertumbuhan pada media. Selanjutnya dilakukan pewarnaan gram untuk mengetahui sifat dan morfologi bakteri.



Gambar 4. Hasil Pewarnaan Gram (Gram Negatif) Sampel Minuman Boba (A), Sampel Kue Pukis (B) dan Sampel Molen (C)

Pewarnaan gram dilakukan untuk memastikan spesies bakteri yang ada. Bakteri gram positif mempunyai warna biru atau keunguan, sedangkan bakteri gram negatif mempunyai warna merah tua atau merah muda. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang termasuk dalam kelompok gram negatif dan mempunyai morfologi seperti batang. Pemeriksaan mikroskopis pada perbesaran 100x menunjukkan bahwa pewarnaan gram bakteri menunjukkan ciri-ciri bakteri berbentuk *coccobacillus*, tampak berwarna merah dan teridentifikasi sebagai bakteri gram negatif. Gambar 4.

Fitur metabolik koloni bakteri yang tumbuh pada media EMBA dinilai melalui eksperimen biokimia, yang menguji kapasitas mereka untuk memfermentasi karbohidrat, menghasilkan H₂S, menghasilkan gas, dan menghasilkan asam, dan beberapa faktor lainnya. Bakteri yang ditemukan pada penelitian ini merupakan kuman *Escherichia coli* yang diperoleh dari media EMBA.

Tabel 5. Hasil Uji Biokimia

Hasil Uji Biokimia	Warna Koloni		
	Hijau Metalik	Merah Mudah	Ungu
Glukosa	+g	+g	+
Laktosa	+g	+g	+
Maltosa	+g	+g	+g
Mannitol	+g	+	+g
Sukrosa	+g	+g	+g
Indol	+	+	+
MR	+	+	+
VP	-	-	-
Sitrat	+	+	+
TSIA	+/+gas	+/+	+/+gas

Berdasarkan data pada Tabel 5, semua jenis koloni menunjukkan kemampuan menjalani fermentasi karbohidrat. Ini termasuk fermentasi glukosa, laktosa, maltosa, manitol, dan sukrosa. Kemampuan bakteri dalam melakukan fermentasi dapat diamati melalui perubahan warna pada media, dari ungu menjadi kuning. Perubahan ini disebabkan oleh adanya indikator Phenol red yang bereaksi dengan kondisi asam. Asam yang dihasilkan selama fermentasi kemudian diubah menjadi H₂ dan CO₂, sehingga menghasilkan produksi gas. Gas ini dapat diamati di tabung Durham. Studi tersebut menunjukkan bahwa bakteri *Escherichia coli* menunjukkan koloni berwarna hijau metalik dan memiliki kemampuan untuk mencerna semua karbohidrat, sehingga menghasilkan produksi gas dalam tabung Durham.

Bakteri yang diisolasi pada medium EMBA membentuk koloni berwarna hijau metalik, menunjukkan hasil positif pada uji TSIA +/+g. Hal ini sejalan dengan hasil uji fermentasi yang menunjukkan bahwa bakteri dapat memfermentasi semua karbohidrat. Koloni yang berwarna merah muda dan ungu menunjukkan TSIA -/+ dan -/+g. Hasil ini sesuai dengan karakteristik biokimia bakteri *Escherichia coli*, karena koloni berwarna merah muda dan ungu tidak sesuai dengan kualitas biokimia bakteri *Escherichia coli*. Tes IMViC membuahkan hasil positif.

Penelitian lain dilakukan oleh Kartikasari, dkk (2019) tentang isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada daging ayam. Dari 26 sampel hanya terdapat 3 sampel yang menunjukkan hasil positif pada uji biokimia dengan presentase 11,5%. Akan tetapi pada penelitian ini, peneliti menggunakan uji IMViC dan tidak melakukan uji fermentasi karbohidrat dan uji TSIA.

Pasar merupakan tempat terjadinya transaksi jual beli barang dan jasa antara penjual dan pembeli. Barang dan jasa yang diperdagangkan seperti makanan, pakaian, barang elektronik dan lain sebagainya. Kontaminasi bakteri pada jajanan dapat terjadi karena kurangnya kesadaran penjual akan proses kebersihan makanan, baik dalam membuat, menyiapkan dan menyajikan

makanan. Kontaminasi juga dapat terjadi karena lingkungan tempat berjual yang kotor.

Penelitian dan pengamatan yang dilakukan peneliti, hasil positif pada ke 3 sampel terjadi karena kurangnya kesadaran penjual terhadap persyaratan Kesehatan Permenkes. Selain itu lingkungan pasar yang kurang tertata rapi. Sehingga semua jenis jualan di biarkan tidak beraturan dan saling berdekatan satu sama lain. Hasil positif sampel juga diakibatkan oleh kontaminasi silang antara penjual dan pembeli. Banyak pembeli yang membawa kendaraan bermotor masuk ke dalam pasar dan merokok sembarangan yang juga mengakibatkan pencemaran udara.

KESIMPULAN

Hasil pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* pada 3 sampel jajanan pasar yang di ujikan di laboratorium didapatkan hasil positif melalui metode *Most Probable Number* (MPN). Cemarannya pada sampel minuman boba sebesar >160 MPN/gr, sampel kue pukis 4,7 MPN/gr dan sampel molen 1,2 MPN/gr. Dari hasil pewarnaan gram yang telah dilakukan, hasil sampel merupakan gram negatif berwarna merah dan berbentuk batang, Dimana ini merupakan ciri dari bakteri *Escherichia coli*. Dan dari uji biokimia didapati hasil positif.

DAFTAR REFERENSI

- Acharya Tankeshwar. (2023). EMB Agar: Composition, Principle, and Colony Morphology. <https://microbeonline.com/> Diakses pada 24 April 2024.
- Anderson, K. L., Whitlock, J. E., & Harwood, V. J. (2005). Persistence and differential survival of fecal indicator bacteria in subtropical waters and sediments. *Applied and environmental microbiology*, 71(6), 3041-3048.
- Feng P. (2015). *Shiga toxin-producing Escherichia coli in fresh produce: A food safety dilemma*. Di dalam: *Enterohemorrhagic Escherichia coli and other Shiga Toxin Producing E. coli*. Sperandio V dan Hovde CJ, editor. Amerika: ASM Press
- Halim, F., Warouw, S. M., Rampengan, N. H., & Salendu, P. (2017). Hubungan jumlah koloni *Escherichia coli* dengan derajat dehidrasi pada diare akut. *Sari Pediatri*, 19(2), 81-85.
- Jamilatun, M., & Aminah, A. (2016). Isolasi Dan Identifikasi *Escherichia Coli* Pada Air Wudhu Di Masjid Yang Berada Di Kota Tangerang. *Jurnal Medikes (Media Informasi Kesehatan)*, 3(1), 81-90.
- Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). *Pathogenic escherichia coli*. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.
- Kartikasari, A. M., Hamid, I. S., Purnama, M. T. E., Damayanti, R., Fikri, F., & Praja, R. N. (2019). Isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli* kontaminan pada daging ayam broiler di rumah potong ayam Kabupaten Lamongan. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 66-71.
- Kementerian Kesehatan RI. (2023). Memilih jajanan yang aman. https://yankes.kemkes.go.id/view_artikel/2570/memilih-jajanan-yang-aman Diakses pada 20 Agustus 2023
- Kurniadi, Y., Saam, Z., & Afandi, D. (2013). Faktor kontaminasi bakteri *E. coli* pada makanan jajanan dilingkungan kantin sekolah dasar wilayah Kecamatan Bangkinang. *Jurnal Ilmu Lingkungan*, 7(1), 28-37.
- Lazuardi, W. (2008). Identifikasi Uji Biokimia Bakteri *Bacillus* sp. Sebagai Bakteri Petrofilik Pendegradasi Kontaminan Pada Proses Bioremediasi. *Jurnal Teknil Sipil, dan Lingkungan*.

- Manning SD. (2010). *Deadly Diseases and Epidemics: Escherichia coli* Infection, Ed ke-2. New York: Chelsea Publishers
- Maimunah, S., Sianipar, A. Y., & Thaib, C. M. (2020). Analisis Mikrobiologi Escherichia Coli Jajanan Minuman di Sekitar Jalan Kapten Muslim Kota Medan. *JURNAL FARMANESIA*, 7(1), 47-53.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesi. (2003). Peraturan Menteri Kesehatan Indonesia No. 942/MENKES/SK/VII/2003 tentang Pedoman Persyaratan Hygiene Sanitasi Makanan Jajanan.
- Misrofah, S., & Purwantisari, S. (2021). Uji Bakteriologis Air Kemasan dengan Metode Most Probable Number (MPN) pada Sistem Quanti-Tray di PDAM Tirta Gemilang, Kabupaten Magelang. *Jurnal Akademika Biologi*, 10(1), 12-16.
- Pawloski SW, Warren CA, Guerrant R. (2009). Diagnosis and treatment of acute or persistent diarrhea. *Gastroenterology*. 136: 1874-1886
- Rahayu, W. P., Siti Nurjanah, S. T. P., & Ema Komalasari, S. T. P. (2021). *Escherichia coli: patogenitas, analisis, dan kajian risiko*. PT Penerbit IPB Press.
- Rahayu, S. A., & Gumilar, M. M. H. (2017). Uji cemaran air minum masyarakat sekitar Margahayu Raya Bandung dengan identifikasi bakteri Escherichia coli. *Indonesian journal of pharmaceutical science and technology*, 4(2), 50-56.
- Rizki, Z., Mudatsir, M., & Samingan, S. (2013). Perbandingan metode tabung ganda dan membran filter terhadap kandungan Escherichia Coli pada air minum isi ulang. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 13(1), 6-12.
- Saridewi, I., Pambudi, A., & Ningrum, Y. F. (2016). Analisis bakteri Escherichia coli pada makanan siap saji di kantin rumah sakit X dan kantin rumah sakit Y. *Bioma*, 12(2), 90-103.
- Walid, D. L., Afiah, A. S. N., & Rahman, I. (2021). Identifikasi Escherichia coli pada Makanan di Rumah Makan di Lingkungan Kampus Ii Universitas Khairun. *Kieraha Medical Journal*, 3(1), 57-65.
- Wardani, D. L., & Setiyaningrum, Z. (2020). Identifikasi bakteri Escherichia coli pada saus makanan jajanan di sekitar kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Jurnal Kesehatan*, 12(2), 91-101
- Yang, X., & Wang, H. (2014). Pathogenic E. coli. *Lacombe: Lacombe Research Centre*, 1, 9-14.