

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Bahan Tambahan Makanan**

##### **2.1.1 Defenisi Bahan Tambahan Makanan**

Menurut undang-undang Nomor 33 tahun 2012 tentang Bahan Tambahan Pangan, Bahan Tambahan Pangan (BTP) merupakan bahan yang ditambahkan pada pangan untuk mempengaruhi sifat atau bentuk makanan. Penggunaan Bahan Tambahan Pangan (BTP) dalam proses produksi pangan perlu diwaspadai bersama, baik oleh produsen maupun oleh konsumen (Febrianti dan hakim 2018). Penambahan bahan tambahan pada makanan memiliki takaran tertentu karena bahan tambahan makanan dapat menyebabkan bahaya bagi kesehatan (kaunang et al.,2021 ). Dalam peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 722/menkes/per/IX/88 dijelaskan bahwa BTP adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai pangan dan mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam pangan (Ratnawati, 2017).

Pangan jajanan anak sekolah (PJAS) adalah semua jenis pangan yang dijual di sekitaran sekolah termasuk di kantin sekolah dan di sekitar lingkungan sekolah. Pangan jajanan anak sekolah biasanya berupa pangan siap saji dan pangan industri rumah tangga yang diproduksi oleh produsen yang sebagian besar kurang memahami keamanan pangan dengan baik, sementara konsumennya adalah anak-anak yang rentan terhadap masalah keamanan pangan. Oleh karena itu PJAS perlu diawasi dengan cermat sehingga anak-anak dapat tumbuh dan berkembang menjadi sumber daya manusia Indonesia yang sehat dan cerdas (saparinto dan Hidayati, 2012). Jajanan disekitaran sekolah umumnya sangat menarik, dijual dengan harga yang sangat terjangkau oleh kantung anak-anak dengan uang jajan seadanya, bentuk dan penampilannya yang menarik, misalnya sosis kiloan yang dibuat menjadi sate sosis yang diberi tambahan saus tomat atau cabe. (Anggiraini dan Hanim 2018).

## **2.2 Saus**

Kata "saus" berasal dari bahasa Prancis (*sauce*) yang diambil dari bahasa Latin *salsus* yang berarti "digarami" saus dalam istilah masak-memasak mengarah pada cairan kental yang digunakan ketika memasak atau dimakan bersama makanan sebagai bumbu atau agar makanan terlihat lebih lezat. Saus merupakan bahan pelengkap yang digunakan sebagai tambahan untuk menambah kelezatan suatu makanan, bisa berupa cairan kental atau pasta yang terbuat dari daging buah, mempunyai warna yang menarik biasanya berwarna merah, mempunyai aroma dan rasa yang menyengat, dengan atau tanpa rasa pedas, dan dapat disimpan dengan jangka panjang karena mengandung asam, gula, garam, dan sering kali pengawet (Putra et al., 2014).

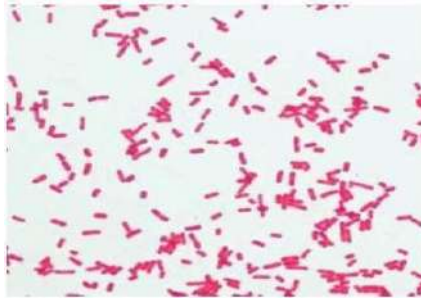
Saus tomat adalah olahan yang dihasilkan dari campuran daging buah tomat atau padatan tomat yang diperoleh dari tomat masak, yang dibuat dengan bumbu-bumbu dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan bahan tambahan pangan yang diperbolehkan. Saus cabai merupakan cairan kental (pasta) yang dibuat dengan mengolah buah cabai dan mencampurkannya dengan bahan lain seperti gula, asam cuka, garam, bumbu dan bahan lainnya seperti zat pewarna dan bahan pengawet, mempunyai aroma dan rasa yang nikmat serta digunakan sebagai bahan pelengkap makanan (Sigit, 2017). Saus cabai isi ulang adalah saus dalam kemasan plastik yang diisi ulang kedalam botol yang telah tersedia di kantin atau warung. Pengemasan atau isi ulang merupakan pembungkusan, pewadahan atau pengepakan yang merupakan salah satu cara pengawetan bahan hasil pertanian, karena pengemasan dapat memperpanjang umur simpan bahan dan dapat mencegah kerusakan pada bahan yang dikemas atau di bungkus (Utami, 2013).

## **2.3 Cemar bakteri**

Saus merupakan makanan yang dapat menjadi media pertumbuhan yang baik dalam perkembangbiakan bakteri. Jika sedikit kontaminan dibiarkan dalam makanan dengan waktu dan suhu yang cukup, maka bakteri dapat tumbuh dan berkembang dan akan menyebabkan wabah yang serius. Pedagang makanan yang menderita sakit atau karier menularkan penyakit lewat saluran pernapasan ketika batuk dan bersin. Selain itu penularan penyakit dapat terjadi melalui makanan, salah satunya yaitu *food infection* dimana mikroorganisme masuk dan berkembang

biak pada makanan dan dapat menyebabkan penyakit.

## **2.4 Bakteri *Escherichia coli***



**Gambar 2. 1** *Escherichia coli*

Sumber : (Brooks, 2013)

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang biasanya ditemukan pada kolon manusia dan hewan sebagai flora normal. Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu jenis bakteri yang termasuk dalam keluarga bakteri coliform dan ditemukan pada air yang terkontaminasi. (Some et al., 2021).

### **2.4.1 Morfologi**

*Escherichia coli* berbentuk batang pendek, bersifat gram negatif, berukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini tidak membentuk spora, tidak tahan terhadap suasana asam, tidak sensitif terhadap panas, dan sebagian besar bergerak menggunakan flagel peritrikus (merata tersebar keseluruhan permukaan sel) namun ada pula yang non-motil, dan beberapa strain mempunyai kapsul. Cara tumbuh bakteri ini adalah anaerob fakultatif atau umumnya bersifat kemoheterotof. Nilai pH yang digunakan untuk pertumbuhannya adalah 7,0-7,5 dan suhu pertumbuhannya 100C-400C dengan suhu optimum 37C (Maradona, 2013).

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang mampu dalam meragikan laktosa dan bersifat patogen oportunis. Bakteri ini mati pada pemanasan suhu 60°C selama 30 menit, tetapi ada juga yang resisten. Dalam media pada suhu kamar, bakteri dapat bertahan selama 1 minggu. Beberapa strain *Escherichia coli* dapat bertahan hidup dalam es selama 6 bulan. Dan sangat peka terhadap desinfektan dan kepekaannya sama dengan *Streptococcus* dan *Staphylococcus* (Misnadiarly dan Djajaningrat, 2014).

#### 2.4.2 Taksonomi *Escherichia coli*

Pengelompokkan secara ilmiah *Escherichia coli* meliputi :

Kingdom : Bacteria

Filum : Proterobacteria

Ordo : Eubacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Kelas : Gamma proteobacteria

Genus : *Escherichia*

Spesies : *Escherichia coli* (Kurniawan, 2018).

#### 2.4.3 Fisiologi

*Escherichia coli* dapat tumbuh dengan baik pada semua media sederhana (agar darah, MCA, Endo agar). Pada media agar darah beberapa strain membentuk Beta Hemolisa disekeliling koloni. *Escherichia coli* dapat meragikan laktosa dengan cepat sehingga pada media *Mac Conkey Agar* membentuk koloni berwarna merah muda sampai tua dan pada media *Endo agar* membentuk koloni berwarna merah muda dengan kilap logam yang spesifik dengan permukaan halus. *Escherichia coli* tumbuh pada suhu antara 10 – 40 ° C dengan suhu optimum 37° C.

#### 2.4.4 Patogenesis

Patogenesis klinis infeksi *Escherichia coli* dengan bakteri enterik lain bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala atau tanda dari proses-proses yang disebabkan oleh bakteri lain. *Escherichia coli* umumnya menyebabkan diare terjadi di seluruh dunia. *Escherichia coli* ini dikelompokkan berdasarkan sifat karakteristik dari virulensinya dan masing-masing kelompok menyebabkan penyakit dengan cara kerja yang berbeda. Patogenitas *Escherichia coli* intrainestinal yaitu:

##### A. Enterotoksigenik *Escherichia coli* (ETEC)

Enterotoksigenik *Escherichia coli* ditularkan melalui rute fecal-oral. Penyebab penularan ETEC terhadap bayi ataupun anak-anak kebanyakan terjadi karena adanya kontaminasi ETEC dengan konsentrasi yang cukup tinggi pada pangan maupun air di daerah tersebut. (Radji, 2016).

##### B. Enteropatogenik *Escherichia coli* (EPEC)

Merupakan penyebab terbesar diare pada bayi hal ini didukung saat keadaan

sanitasi yang buruk. Infeksi terjadi saat lahir dengan cara sel bakteri menempel amukosa usus halus yang nantinya menyebabkan mual muntah demam dan diare berair. Karakteristik utama dari EPEC adalah kemampuannya untuk menginduksi luka (attaching-effacing) pada saluran pencernaan dengan cara merusak mikrovili usus. Enteropatogenik *Escherichia coli* di bagi menjadi dua sub-grup, yaitu EPEC tipikal (tEPEC) dan EPEC atipikal (aEPEC) (Bouzari et al. 2011).

C. Enterohemorganik *Escherichia coli* (EHEC)

Enterohemoragik *Escherichia coli* merupakan *kelompok Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare atau kolitis berdarah pada manusia yang dapat berujung pada sindrom hemolitik uremik (Hemolytic Uremic Syndrom/HUS). (Winiati p rahayu, 2018).

D. Enteroinvasif *Escherichia coli* (EIEC)

Bakteri ini merupakan penyebab diare, yang memiliki gejala klinis menyerupai diare yang ditimbulkan oleh bakteri *Shigella* yang ada demamnya. EIEC tumbuh didalam setiap sel kolon yang bisa membuat kerusakan padanya. (Radji, 2016). Penularan EIEC umumnya berasosiasi dengan air atau pangan yang terkontaminasi feses serta penularan person-to person. (Escher et al. 2014).

E. Enteroagregatif *Escherichia coli* (EAEC)

Enteroagregatif *Escherichia coli* pertama kali diidentifikasi pada tahun 1983 dan diketahui sebagai penyebab diare pada tahun 1987 (Boisen et al. 2013). Penularan EAEC umumnya bersifat fecal-oral. Beberapa hasil studi menunjukkan potensi risiko penyebaran infeksi EAEC melalui pangan. Bakteri yang menyebabkan diare kronis, akut namun tanpa gejala berdarah dan tidak menimbulkan inflamasi pada mukosa intestine. (Radji, 2016).

## 2.5 Pemeriksaan laboratorium

Identifikasi bakteri *Escherichia coli* dilakukan di laboratorium dengan metode Kuantitatif dan Kualitatif. Uji Kuantitatif menggunakan metode Uji Angka Lempeng Total (ALT) dan Most Probable Number (MPN). Sedangkan Uji Kualitatif menggunakan metode isolasi dan identifikasi melalui uji Reaksi Biokimia.

### **2.5.1 Uji Angka Lempeng Total**

Angka Lempeng Total (ALT) atau total plate count (TPC) merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk menentukan jumlah mikroorganisme baik bakteri maupun jamur di dalam bahan pangan. Dengan cara masing-masing Tabung reaksi diisi 9 ml NaCl 0,9 %. Dibuat pengenceran dengan 10<sup>-1</sup> sampai 10<sup>-3</sup>. Kemudian Pipet masing-masing pengenceran sebanyak 1 ml, masukkan ke cawan petri yang telah berisi media. Inkubasi pada suhu 35°C-37°C selama 24-48 jam dengan posisi terbalik. Amati koloni antara 30-300 koloni. Setelah proses inkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung di masing-masing cawan petri. Untuk menghitung angka total bakteri dalam  $\pm 1$  gram sampel, yaitu dengan mengalikan jumlah rata-rata koloni yang tumbuh pada cawan petri dengan faktor pengenceran yang digunakan selama proses pengenceran (Karliah, 2014).

### **2.5.2 Most Probable Number**

MPN atau disebut juga dengan Angka Paling Mungkin (APM) adalah metode perhitungan mikroba, yang menggunakan data hasil pertumbuhan mikroorganisme dalam seri tabung media cair tertentu, sampel padat atau cair yang ditumbuhkan sesuai jumlah sampel atau diencerkan sesuai tingkatan seri tabung untuk menghasilkan nilai MPN/satuan volume atau massa sampel (Hafsan, 2014). Pada uji MPN dapat mendeteksi keberadaan bakteri coliform, bakteri gram negatif dan bakteri basil non – spora yang dapat memfermentasikan laktosa dengan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, contohnya *Escherichia coli* (Yusmania et al., 2017).

Nilai MPN adalah suatu angka yang menggambarkan jumlah mikroorganisme yang memiliki kemungkinan paling tinggi. Semakin kecil nilai MPN, maka air tersebut memiliki kualitas yang baik dan layak diminum. Setiap nilai MPN memiliki rentang nilai MPN terendah dan nilai MPN tertinggi, karena pada metode ini memiliki limit kepercayaan hingga 95% (Lisnawati, 2017). Metode MPN memiliki 2 tahapan, yaitu:

#### **a. Uji penduga ( Presumptive Test)**

Merupakan metode untuk memprediksi keberadaan *Escherichia coli* yang dapat memfermentasi laktosa dengan menghasilkan gas. Uji ini dapat menggunakan media Lactose Broth (LB) atau Mac Conkey Broth (MCB). Di

inkubasi pada suhu 36°C selama 24 jam. Terbentuknya gas sebanyak 10% atau lebih dari volume tabung durham dinyatakan sebagai tabung positif. Tabung yang tidak menghasilkan gas maka dihitung sebagai tabung negatif. (Hafsan, 2014).



*Gambar 2. 2 Hasil positif dengan adanya gelembung udara (kiri), hasil negatif tidak adanya gelembung udara*

(Sumber : Anis Akhwan Dhafin, 2017).

#### **b. Uji Penegasan (Confirmed Test)**

Adanya gas dalam Lactose Broth atau Mac Conkey Broth (MCB) tidak selalu menunjukkan hasil dari bakteri Coliform, karena bakteri lain mampu memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan gas seperti bakteri asam laktat dan beberapa khamir tertentu. Menghindari hasil positif palsu dilakukanlah uji penegasan dengan media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLBB) dengan memindahkan sebanyak 1 ose biakkan berasal dari tabung yang menghasilkan gas pada uji penduga. Kemudian diinkubasi pada suhu 36°C selama 24-48 jam. Gas yang terbentuk dalam tabung durham pada media BGLBB memperkuat bukti adanya bakteri Coliform (Hafsan, 2014).



*Gambar 2. 3 Tabung kontrol negatif (kiri), Tabung sampel negatif (tengah), Tabung sampel positif (kanan)*

(Sumber : Anis Akhwan Dhafin, 2017).

#### **2.5.3 Isolasi menggunakan Teknik Spread Plate**

Teknik spread plate adalah sebuah teknik menumbuhkan mikroorganisme di dalam media agar yang dilakukan dengan cara menuangkan stok kultur bakteri di atas media yang telah padat (Krisno,A. 2011). Pada metode ini, agar steril

terlebih dahulu dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan membeku. Setelah membeku dengan sempurna kemudian sebanyak 0,1 ml sampel yang telah diencerkan di pipet dan diinokulasikan pada permukaan media EMBA. Kemudian diratakan dengan spreader atau dapat juga dilakukan dengan cara memutar cawan petri membentuk angka delapan. Selanjutnya, inkubasi dengan suhu 37°C selama 1×24 jam.

Media *Eosyn Methylene Blue Agar* (EMBA) adalah media yang mengandung laktosa dan sukrosa, dan merupakan salah satu media paling selektif yang dapat digunakan untuk mengisolasi atau mengidentifikasi bakteri jenis gram negatif dan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. *Escherichia coli* pada EMBA diidentifikasi sebagai koloni bulat, licin dengan warna hijau metalik dan bintik hitam di tengahnya (Ademi dan Rinanda, 2011). Hal ini terjadi karena bakteri *Escherichia coli* dapat memfermentasikan laktosa pada media, menghasilkan produk asam sehingga terjadinya perubahan warna indikator methylene blue menjadi hijau.



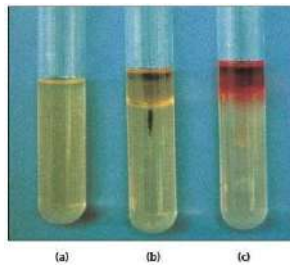
**Gambar 2. 4** Hasil uji pelengkap membentuk warna hijau metalik

(Sumber: Khotimah, 2016).

#### **2.5.4 Uji Identifikasi dengan metode Reaksi Biokimia (IMVIC)**

##### **A. SIM**

Media agar SIM mengandung substrat triptofan yang akan diubah menjadi Indol asam piruvat dan amonia dengan bantuan enzim triptopanase adanya produksi Indol dideteksi dengan menambahkan reagen kofaktor yang menghasilkan lapisan warna merah Cherry sedangkan hasil negatif ditunjukkan dengan tidak berubahnya warna menjadi merah ceri saat penambahan reagen yang menunjukkan tidak terjadinya hidrolisis triptofan. (Cappuccino James G, Sherman Natalie. 2014).



**Gambar 2. 5** Hasil Uji Produksi Indol: (a). Tidak ada inokulasi, (b). Negatif, (c). Positif

(Sumber : Cappuccino James G, Sherman N, 2014).

Uji *Sulfide Indol Motility* (SIM) bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri memiliki kemampuan memecah Tryptophan menjadi Indol dan kemampuan bakteri tumbuh pada media semisolid untuk spesies yang bergerak aktif ditunjukkan dengan penyebaran pertumbuhan koloni di sekitar penanaman. Uji indol dilakukan untuk mendeteksi adanya indol yang dihasilkan oleh suatu bakteri tertentu.(UPTD, 2013). Bakteri *Eschericia coli* akan menunjukkan hasil positif pada Uji Indole karena memiliki kemampuan tersebut. (Kurniawan, dkk. 2023).

#### **B. Uji Methyl Red (MR)**

Uji yang bertujuan untuk membedakan bakteri yang mampu memproduksi asam dari proses fermentasi glukosa pada media *methyl red- voges proskauer* (MR-VP) broth dengan penambahan reagen *Methyl Red* sebagai indikator pH. Uji *methyl red* akan berwarna merah pada pH 4,4 dan berwarna kuning pada pH 6,2. Artinya, bakteri ini menghasilkan asam campuran (metilen glikon) dari proses fermentasi glukosa yang terkandung dalam medium MR-VP (Putri, 2015). Hasil pengamatan untuk uji Methyl Red pada isolat bakteri *Escherichia coli* adalah positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah ataupun orange sedangkan kuning berarti negatif (Rahayu dan Gumilar, 2017).

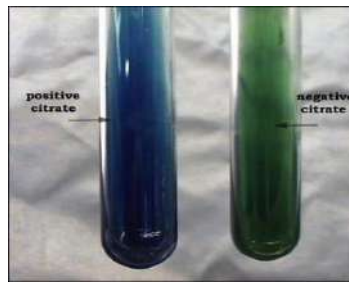
#### **C. Uji Voges proskauer (VP)**

Uji *Voges proskauer* adalah uji yang digunakan untuk mendeteksi asetoin dalam kultur bakteri. Cara kerja pengujian ini yaitu dengan menambahkan alpha-naftol dan kalium hidroksida pada media *Voges Proskauer* yang telah diinokulasikan bakteri. Hasil positif akan menghasilkan warna merah, sedangkan hasil negatif akan tetap berwarna kuning-coklat. Uji Voges Proskauer(VP) negatif

untuk *Escherichia coli* karena *Escherichia coli* memfermentasikan karbohidrat menjadi produk asam dan tidak menghasilkan produk netral seperti asetonin (Rahayu dan Gumilar, 2017).

#### **D. Uji Simon Citrate**

Uji *Simmon Citrate* dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme memakai sitrat sebagai sumber energi dan karbon. Prinsip dari uji *Simmon Citrate* ini adalah sodium sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan garam ammonium organik sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Bakteri yang bisa tumbuh pada media ini akan mengubah indikator Bromthymol biru dari hijau menjadi biru. (UPTD, 2013). Hasil pengamatan untuk uji sitrat adalah negatif pada *Escherichia coli* karena *Escherichia coli* tidak memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon yang ditunjukkan tidak adanya perubahan warna pada media uji sitrat (Rahayu dan Gumilar, 2017).



**Gambar 2. 6** Interpretasi Simmon sitrat

Sumber : (Sumber : Hafsan dkk, 2016)