

BAB II

LANDASAN TEORI

2.1 Angka Lempeng Total (ALT)

Angka Lempeng Total (ALT) atau *Total Plate Count* (TPC) adalah analisa untuk uji cemaran mikroba dengan metode pengenceran bertingkat dan cawan tuang *Standart Plate Count* (SPC). Angka Lempeng Total (ALT) merupakan angka yang menunjukkan jumlah koloni bakteri aerob mesofilik yang terdapat pada per gram ataupun per milliliter sampel uji.

Tujuan uji ini adalah untuk menghitung jumlah total koloni mikroba dari sampel padat maupun sampel cair dengan metode pengenceran bertingkat. Pengenceran bertingkat adalah proses pengenceran bertahap sehingga dihasilkan perbandingan yang lebih kecil.

Prinsip dari ALT adalah menghitung pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel makanan di tanam pada media yang sesuai dengan caratuang dan di diamkan selama 24-48 jam pada suhu ruangan 35-37°C. Pengujian dilakukan secara triplo, setelah inkubasi, dipilih cawan petri dari satu pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 25-250 koloni. Jumlah koloni rata-rata dari ketiga dihitung lalu dikalikan dengan faktor cawan pengencerannya. Hasil dinyatakan sebagai Angka Lempeng Total (ALT) dalam tiap gram (Isworo & Hartini, 2017).

Metode penentuan jumlah lempeng ini di gunakan untuk menentukan jumlah mikroorganisme aerob dan anaerob (Arini *et. al*, 2017). Angka lempeng total dapat dilakukan dengan dua teknik, yaitu dengan *Spread Plate Method* (Cara Sebar) dan *Pour Plate Method* (Cara Tabur/tuang). Metode permukaan (*spread plate method*) dilakukan dengan menempatkan media pada cawan petri dan didiamkan hingga beku. Setelah itu 0,1 ml sampel disebar di atas permukaan agar. Perhitungan jumlah koloni yang tumbuh dihitung dari setiap cawan. Perhitungan dilakukan pada cawan yang memiliki jumlah koloni 25-250 bakteri (Rahayu dan Nurwitri, 2019). Metode *pour plate* dilakukan dengan caramenuangkan 1 ml sampel dari setiap pengenceran pada cawan petri yang kosong, kemudian

menuangkan media yang masih cair sehingga media dengan sampel tercampur. Langkah selanjutnya adalah memutar cawan petri mengikuti pola angka delapan dan inkubasi pada suhu 37°C selama 1 x 24 jam.

2.1.1 Syarat Koloni yang Dihitung

Perhitungan jumlah koloni bakteri pada ALT, yaitu:

- 1) Idealnya jumlah koloni per *plate* yang boleh dihitung yaitu antara 25 s/d 250 CFU (*coloni from unit*)
- 2) Koloni besar, kecil, menjalar dianggap berasal dari satu bakteri. Syarat koloni yang ditentukan untuk dihitung adalah sebagai berikut:
 - ✓ Satu koloni dihitung satu koloni
 - ✓ Dua koloni yang bertumpuk dihitung satu koloni
 - ✓ Beberapa koloni yang berhubungan dihitung satu koloni
 - ✓ Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung dua koloni
 - ✓ Koloni yang terlalu besar (lebih besar dari setengah luas cawan) tidak dihitung.
 - ✓ Koloni yang besarnya kurang dari setengah luas cawan dihitung satu koloni.
 - ✓ Perhitungan dapat dilakukan dengan cara manual dengan memberi tanda titik dengan spidol pada petri dish pada koloni yang sudah dihitung, dapat pula digunakan *Coloni Counter*.
 - ✓ Dengan mengkalikan pengenceranya akan diperoleh angka/jumlah kuman/bakteri per 1 gram/1cc sampelnya.
 - ✓ Jumlah koloni dalam sampel dapat dihitung dengan cara *PourPlate*: lempeng yang digunakan dalam perhitungan bakteri ialah lempengan yang mengandung 30-300 koloni. Jumlah bakteri per/ml ialah jumlah koloni dikalikan faktor pengencer.

Rumus:

$$ALT \text{ atau } CFU/g = \frac{\text{Jumlah Koloni} \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Volume yang ditanam}}$$

2.1.2 Kelebihan Dan Kekurangan Uji ALT

Kelebihan dari uji ALT adalah jasad renik yang dihitung hidup, beberapa jasad renik dapat dihitung sekaligus, dapat digunakan untuk isolasi dan indikasi jasad renik karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari suatu jasad renik yang mempunyai penampakan pertumbuhan spesifik. Sedangkan kekurangannya yaitu hasil hitungannya tidak menunjukkan jumlah sel yang sebenarnya, karena beberapa sel yang mungkin membentuk koloni, medium dan kondisi inkubasi yang berbeda juga mungkin menghasilkan nilai yang berbeda, jasad renik yang ditumbuhkan harus dapat tumbuh pada medium padat dan membentuk koloni yang kompak, jelas, dan tidak menyebar.

2.2 Bakteri

Bakteri merupakan sel prokariotik yang khas, uniseluler dan tidak mengandung struktur yang terbatas oleh membran di dalam sitoplasmanya. Sel-selnya secara khas berbentuk bulat sampai berbentuk batang. Bakteri yang khas berukuran sekitar 0,5-1,0 μm dengan panjang 1,5-2,5 μm . Reproduksi utama bakteri yaitu dengan pembelahan biner sederhana (suatu proses aseksual). Sebagian bakteri dapat tumbuh dalam suhu 0°C, ada juga bakteri yang tumbuh dengan baik pada suhu 90°C atau lebih pada air panas. Bakteri dapat menimbulkan berbagai perubahan kimiawi yang mampu menghancurkan banyak zat pada substansi yang ditumbuhinya. Berbagai macam bakteri dapat menimbulkan penyakit pada binatang maupun manusia, tumbuhan dan Protista lainnya.

Kriteria pengklasifikasian bakteri mencakup banyak sifat. Sebagian bakteri menghasilkan pigmen yang sangat khas sehingga dapat dibedakan atas dasar enzim ekstraseluler komplemennya dan dapat menentukan suatu kelompok bakteri tersebut. Selain itu kestabilan genetiknya juga dapat menyebabkan sifat bakteri menjadi sangat beragam dalam satu kelompok biologik bahkan dalam beberapa lapisan sel tunggalnya berubah. Salah satu klasifikasi yang paling sering digunakan untuk membedakan suatu bakteri yaitu dengan melakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram merupakan prosedur mikrobiologi mendasar untuk

menguji atau mengidentifikasi bakteri. Berikut adalah golongan bakteri berdasarkan deteksi pewarnaan gram.

- Bakteri gram positif, yaitu bakteri yang mempunyai lapisan peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan dengan bakteri gram negatif. Bakteri dengan gram positif dinding selnya terdiri dari 2-3 lapisan (membran sel, lapisan peptidoglikan dan memiliki kapsul pada beberapa bakteri tertentu).
- Bakteri gram negatif, yaitu bakteri dengan dinding sel yang dapat dibedakan dari tiga lapisannya yaitu membran dalam, lapisan peptidoglikan dan membran luarnya. Pada sebagian bakteri terdapat lapisan terluarnya yang disebut juga dengan kapsul. Jika diteliti disebelah luar lapisan peptidoglikan terdapat 3 komponen yakni lipoprotein, membrane luar, dan lipopolisakarida. Pada sebagian jenis bakteri gram negatif, terdapat enzim *beta-lactamase* (enzim yang dapat memecah penisilin dan obat-obatan laktam lainnya) diantara lapisan membran sitoplasma dan membran lapisan terluarnya.
- Bakteri Tahan Asam (BTA) yaitu bakteri gram positif dan gram negatif yang mengandung lipid (asam mikloat) yang banyak pada dinding selnya. Dengan demikian bakteri tahan asam ini tahan terhadap pencucian dengan alkohol-asam setelah diwarnai dengan karbol fuchsin.

2.3 Cemarkan Bakteri Dalam Makanan

Negara berkembang seperti Indonesia dengan angka penyakit yang tinggi di dominasi oleh infeksi saluran cerna, saluran pernafasan, saluran kemih, kulit, bahkan infeksi sistemik. Faktor penyebab terjadinya infeksi tersebut kemungkinan ada pada kecenderungan masyarakat yang lalai terhadap kebersihan makanan dan minuman. Pengolahan makanan yang tidak steril adalah awal mula terdapatnya mikroba atau mikroorganisme pada suatu makanan. Salah satu penyebab makanan dan minuman terkontaminasi mikroba, yaitu kurangnya perhatian terhadap penjualan makanan yang tidak bersih dan tidak aman (Yunus, dkk., 2017). Salah satu faktor penyebab makanan terkontaminasi disebabkan karena adanya bahan

yang tercemar oleh mikroba atau organisme dalam makanan yang kemungkinan di dapat mulai dari proses produksi hingga makanan siap disajikan (Siska, 2022).

Makanan bisa tercemar bakteri dari pisau yang digunakan untuk memotong bahan mentah yang terkontaminasi bakteri patogen (misal: daging mentah). Jika alat tersebut digunakan kembali tanpa dicuci untuk memotong makanan yang dimasak, maka akan mencemari makanan dan dapat menularkan bakteri patogen sehingga menimbulkan risiko kesehatan bagi orang yang mengonsumsi makanan tersebut (Pertiwi, 2019).

Kontaminasi bakteri dalam makanan dapat menurunkan kualitas makanan berbahan dasar daging hewani menjadi lebih mudah rusak. Jika masyarakat mengonsumsi makanan tersebut, maka dapat menyebabkan timbulnya berbagai penyakit. Saat ini pedagang makanan sudah sangat banyak, ada yang berjualan di tempat dan ada yang berkeliling. Hal ini juga menjadi faktor penyebab terkontaminasinya makanan yang dijual (Pertiwi, 2019).

Bahan makanan adalah salah satu wadah yang paling rentan di tumbuhi oleh mikroba, karena di dalamnya terdapat kandungan nutrisi yang mendukung mikroba untuk tumbuh. Ada beberapa hal faktor yang mempengaruhi tumbuhnya mikroba patogen pada makanan, yaitu suhu, nilai pH, kandungan air, terdapat atau tidaknya oksigen, hubungan mikroorganisme, serta waktu kontak mikroorganisme pada makanan (Nofrianti, dkk., 2012).

Bakteri patogen umum yang diduga penyebab tercemarnya makanan di Indonesia, mulai dari proses produksi hingga distribusinya yaitu, seperti *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus*, dan *Complybacter* (Prananda, dkk., 2019).

Foodborne Disease Burden Epydemiologi Refrence Group (FERG) menyatakan bahwa di Asia Tenggara angka kejadian *foodborne disease* >32000 kasus kematian. Gejala yang sering ditimbulkan, yaitu mual, sakit perut dan diare. *Foodborne disease* merupakan suatu gejala penyakit yang terjadi dikarenakan mengonsumsi makanan yang mengandung banyak mikroorganisme atau toksinnya. *Foodborne disease* ini di akibatkan oleh pendinginan yang tidak memadai, penyimpanan makanan pada suhu hangat, persiapan makanan sebelum

waktu penyajian, dan pemanasan ulang yang tidak tepat. Contohnya pada makanan seperti biji-bijian, beras, sayuran matang dan seperti pada jajanan bakso, sosis, saus dan lain-lain, maupun produk kering atau basah.

2.4 Bakso

Bakso merupakan salah satu makanan yang sering dijumpai di Indonesia. Bakso terbuat dari daging yang dihaluskan dengan bahan lainnya serta bumbu-bumbu agar bakso terasa lebih lezat. Umumnya bakso dibuat dengan bentuk bulatan menyerupai bola-bola kecil. Cita rasa bakso yang lezat dengan teksturnya yang kenyal menjadikan bakso banyak digemari masyarakat. Bakso biasanya diolah menjadi beragam hidangan, ada yang disajikan dengan mie dan kuah, di bakar, di tumis dan beragam hidangan bakso lainnya.

Syarat mutu pada bakso harus diperhatikan sesuai dengan SNI 3818:2014, sebagai berikut:

Tabel 2.1 Syarat Mutu Daging

No	Kriteria Uji	Satuan	Persyaratan	
			Bakso Daging	Bakso Daging Kombinasi
1	Keadaan			
	Bau	-	Normal, khas daging	Normal, khas daging
	Rasa	-	Normal, khas bakso	Normal, khas bakso
	Warna	-	Normal	Normal
	Tekstur	-	Kenyal	Kenyal
2	Kadar air	% (b/b)	Maks. 70,0	Maks. 7,0
3	Kadar abu	% (b/b)	Maks. 3,0	Maks. 3,0
4	Kadar protein ($N \times 6,25$)	% (b/b)	Min. 11,0	Min. 8,0
5	Kadar lemak	% (b/b)	Maks. 10	Maks. 10
6	Cemakan mikroba			
	Angka Lempeng Total	CFU/g	Maks. 1×10^5	Maks. 1×10^5
	Coliform	APM/g	Maks. 10	Maks. 10

<i>Escherichia coli</i>	APM/g	< 3	<3
<i>Salmonella sp.</i>	-	Negatif/25 g	Negatif/25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	CFU/g	Maks. 1×10^2	Maks. 1×10^2
<i>Clostridium perfringens</i>	CFU/g	Maks. 1×10^2	Maks. 1×10^2

Sumber: BSN (2014)

Tabel 2.2 Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan

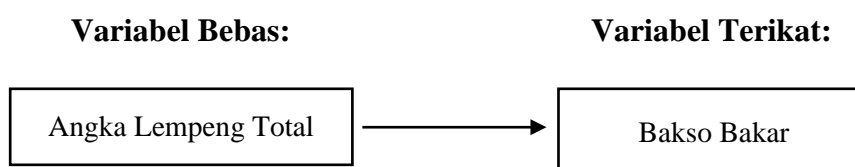
Produk olahan daging, daging unggas dan daging hewan buruan, dihaluskan		
Daging olahan dan daging ayam	ALT (30 °C, 72 jam)	1×10^5 CFU/g
olahan (bakso, sosis, naget, burger)	APM Koliform	10/9
	APM <i>Escherichia coli</i>	< 3/g
	<i>Salmonella sp</i>	Negatif/25 g
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1×10^2 CFU/g
	<i>Clostridium perfringens</i>	1×10^2 CFU/g

Sumber: SNI (7388:2009)

2.5 Bakso Bakar

Bakso merupakan salah satu produk daging olahan yang berbahan dasar daging. Bakso bakar adalah hidangan bakso yang ditusuk dengan tusuk sate dan diberi bumbu, kemudian di bakar di atas arang. Namun, perlu diperhatikan lagi tentang keamanan jajanan bakso bakar, karena dijual dalam keadaan terbuka di pinggir jalan dan dibiarkan dalam waktu yang cukup lama (Mayaserli, 2019).

2.6 Kerangka Konsep



2.7 Definisi Operasional

- a. Angka Lempeng Total (ALT) adalah uji untuk menghitung pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel makanan di tanam pada media yang sesuai dengan cara tuang dan diamkan selama 24-48 jam pada suhu ruangan 35-37°C.
- b. Bakso bakar adalah produk daging olahan yang dibentuk bulatan yang disajikan dengan cara di bakar di atas arang.