

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum Lokasi Penelitian



Kupang Timur adalah sebuah kecamatan di Kabupaten Kupang, Nusa Tenggara Timur, Indonesia. Kecamatan ini berjarak sekitar 33 km sebelah timur kota Kupang. Ibu kota Kabupaten Kupang terletak di kecamatan ini. Kecamatannya meliputi 4 (empat) kecamatan dan 8 (delapan) desa termasuk desa Oesao.

Sekolah Dasar Inpres Kayu Putih Oesao merupakan salah satu sekolah negeri naungan Pemerintah Daerah yang ada di desa/kelurahan Oesao, kecamatan Kupang Timur. Sekolah ini memiliki luas 1.655 m² dengan akreditasi B. Siswa di sekolah dasar ini adalah 211, perempuan 108 dan laki-laki 103 dengan jumlah guru 16 orang. Terdapat 8 ruang kelas, 2 ruang guru di bagian utara sekolah, dan kantin di bagian selatan sekolah.

(<https://referensi.data.kemdikbud.go.id/tabs.php?npsn=50300423>)

B. Karakteristik Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah jajanan makanan yang dikelola secara tradisional. Sampel yang dimaksud merupakan makanan olahan pangan yang digoreng ataupun dikukus. Proses pengambilan sampel dilakukan dengan teknik total sampling yaitu semua sampel yang memenuhi kriteria akan diambil untuk dilanjutkan pada penelitian.

Terdapat 4 penjual di kantin SD Inpres Kayu Putih Oesao yang menjadi populasi dalam penelitian ini. Dari ke-4 penjual tersebut, 3 di antaranya menjual jajanan yang memenuhi kriteria sampel yang dibutuhkan. Penjual pertama menjual gorengan berupa gorengan pisang dan tahu, penjual kedua menjual jagung goreng, penjual ketiga menjual pisang goreng dan penjual yang keempat menjual *snack* dalam kemasan produk pabrik.

Jumlah sampel yang diambil dari semua penjual adalah empat. Dari empat sampel tersebut masing-masing akan dibuat pengencer 10^{-1} sampai 10^{-6} dengan setiap pengencer akan ditanam ke media pertumbuhan. Setiap sampel memerlukan 12 plate karena dikerjakan duplo sehingga jumlah semua plate yang diperlukan adalah 48 plate.

Sampel yang dibeli kemudian dimasukkan ke dalam plastik bening yang steril lalu dibawa ke laboratorium untuk dilakukan perlakuan. Dari setiap sampel diambil sebanyak 25 gram, dimasukkan ke erlenmeyer berisi 225ml NaCl 0,9% untuk diambil ekstrak sebanyak 1000 μ L lalu dilanjutkan pada tahap pengenceran. Semua langkah dilakukan secara aseptik. Fungsi dari penggunaan

NaCl 0,9% adalah untuk menjaga keseimbangan ion sel mikroba sehingga baik untuk menjaga ketahanan hidup bakteri (Amanda Rizki, dkk., 2021).

Pengenceran dilakukan dengan metode ALT (Angka Lempeng Total). ALT disebut juga *Total Plate Count* (TPC) adalah jumlah mikroba aerob mesofilik per gram atau per mililiter untuk menghitung pertumbuhan koloni bakteri aerob mesofil setelah sampel makanan ditanam pada lempeng media yang sesuai dengan cara tuang kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35-37° (Jain, 2018). Pengenceran bertujuan untuk mengurangi jumlah kandungan mikroorganisme dalam sampel per pengenceran sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganisme secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan koloni yang tepat (Surahmaida & Nurhatika, 2018). Metode hitungan cawan pada ALT adalah, jika sel yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Azizah & Eka, 2019).

Jumlah plate berisi media EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*) steril yang digunakan adalah 48 plate dan 2 plate yaitu kontrol positif dan negatif. Setelah ekstrak sampel ditanam ke media pertumbuhan, media kemudian diinkubasi pada inkubator selama 1x24 jam. Masa inkubasi bakteri *E. Coli* dapat berlangsung dalam waktu 12 jam hingga 3 hari (Safira, ahmayanti, & Aulianid, 2023). Namun, inkubasi bakteri dilakukan selama 24 jam karena pada waktu tersebut bakteri dimungkinkan telah berada pada fase logaritmik atau

eksponensial, pada fase tersebut bakteri melakukan pembelahan secara konstan dan jumlah yang meningkat (Ifnawati, 2013).

Penggunaan kontrol dimaksudkan untuk membandingkan hasil penelitian dengan hasil yang sudah diketahui. Kontrol positif merupakan kontrol eksperimental yang memberikan hasil pertumbuhan bakteri sementara kontrol negatif merupakan kontrol yang tidak menunjukkan hasil pertumbuhan bakteri (Sari, Sumpono, & Elvinawati, 2019). Kontrol positif didapat dari penanaman sampel minuman pada media EMBA yang menunjukkan hasil pertumbuhan bakteri *E. Coli* berwarna hijau metalik, sedangkan perlakuan kontrol negatif digunakan aquades karena merupakan senyawa netral yang tidak berefek terhadap pertumbuhan bakteri. Kontrol negatif digunakan sebagai pembanding dengan hasil yang terjadi (Sangkoy, Simbala & Rumondor, 2023).





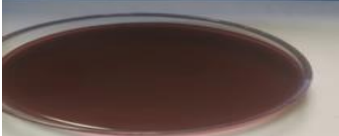




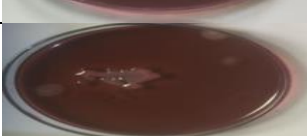


Media EMBA merupakan medium diferensial untuk *Escherichia coli*. Medium diferensial adalah lingkungan yang dapat menumbuhkan jenis bakteri tertentu dan menyebabkan koloni bakteri tertentu mempunyai bentuk khusus. Media ini menumbuhkan bakteri yang termasuk dalam kelompok *Enterobacteria*, salah satunya adalah *Escherichia coli* yang akan tumbuh dengan membentuk koloni dengan warna tertentu dengan ciri berbentuk bulat, diameter 2-3 mm, berwarna hijau berkilau metalik (Fatiqin, Novita & Apriani, 2019).

Selain *E. Coli*, adapun bakteri lain yang dapat tumbuh di media EMBA yaitu *Klebsiella* yang berwarna merah muda karena tidak dapat memfermentasi laktosa, *Salmonella* Sp. dengan ciri-ciri koloni berwarna hitam total karena

mampu memfermentasi glukosa yang menghasilkan asam dan gas, dan bakteri *Pseudomonas Sp.* yang memiliki ciri-ciri koloni bening karena tidak dapat memfermentasi (Jannah & Fitriainingsih., 2023).

Bakteri *E. Coli* juga dapat hidup di media lain selain EMBA dengan ciri-ciri koloni yang berbeda setiap media. Pada media MCA (*Mac Conkey Agar*), ciri-ciri koloni akan tampak besar dan berwarna merah bata, sedangkan pada media BAP (*Blood Agar plate*) besar koloni *E. Coli* sedang dan berwarna abu-abu (Artanti & Azizah, 2018).

Plate yang sudah ditanam spesiemen dan diinkubasi kemudian diamati sehingga didapat hasil pada gambar berikut:

Kode Sampel	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi
Kontrol Positif		
Kontrol Negatif		
S1		
S2		
S3		
S4		

Gambar 1.5. Hasil Makroskopis Plate

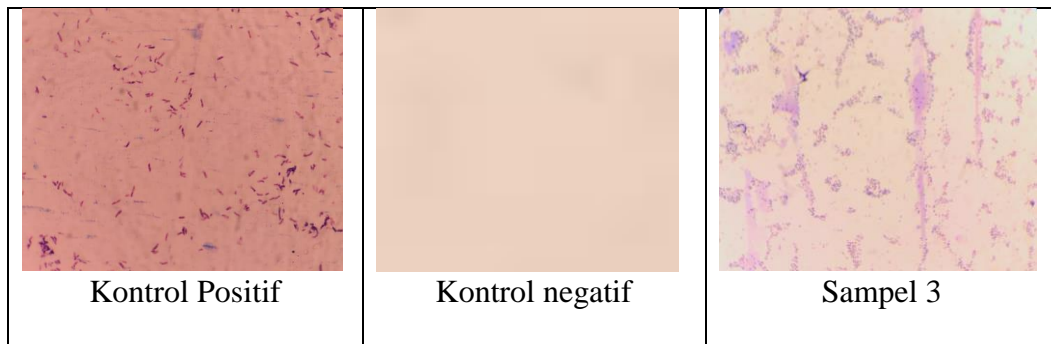
Berdasarkan gambar makroskopis plate sebelum dan sesudah dapat dilihat bahwa tidak adanya perbedaan warna yang terjadi atau negatif pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat dibedakan dengan hasil makroskopis plate pada penelitian Jamilatun (2016) dimana menunjukkan hasil pertumbuhan *E. Coli* pada EMBA yang memperlihatkan koloni berwarna hijau metalik dengan titik hitam di bagian tengah koloni.

Media EMBA mengandung eosin dan *metilen blue*, yang menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif, maka media ini dipilih untuk bakteri Gram negatif. EMBA juga mengandung karbohidrat laktosa, dengan adanya karbohidrat laktosa bakteri Gram negatif terdiferensiasi berdasarkan pada kemampuan mereka untuk memfermentasi laktosa. Warna media sebelum pemupukan bakteri berwarna merah keunguan. Perubahan warna hijau metalik pada media EMBA karena *Escherichia coli* dapat memfermentasi laktosa yang mengakibatkan peningkatan kadar asam dalam media (Jamilatun & Aminah, 2016).

Hasil penelitian secara makroskopis didapatkan semua plate negatif atau tidak ada pertumbuhan koloni. Namun, terdapat satu plate yang menunjukkan pertumbuhan sehingga dilakukan pewarnaan gram. Pewarnaan gram merupakan langkah awal untuk identifikasi bakteri. Pada pewarnaan gram bertujuan untuk mengetahui sifat gram serta morfologi dari bakteri yang diidentifikasi. Bakteri akan dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Pada pewarnaan Gram, hasil

yang didapat akan ditentukan dari komposisi dinding sel pada bakteri (Mahmudah, Baharuddin, & Sappewali., 2016).

Setelah dilakukan pewarnaan gram, didapatkan hasil dalam gambar berikut:



Gambar 1.6. Hasil Mikroskopis Pewarnaan Gram

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi secara makroskopis pada media EMBA (sampel 3) dengan ciri-ciri koloni berwarna merah muda, bentuk mukoid, tepi rata dan berkoloni besar, diduga bakteri tersebut adalah bakteri *Klebsiella*. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Brisse, dkk (2006) dan (Bolla, Suarjana, & Gelgel., 2021).

Kontaminasi bakteri *Klebsiella* dapat terjadi di tempat pengambilan sampel. Bakteri ini juga terdapat di udara dan dapat mengkontaminasi jajanan atau makanan yang dikonsumsi. Kontaminasi ini terjadi karena sampel yang diambil belum mendapatkan perlakuan secara steril sehingga bakteri dapat ada pada sampel.

Penelitian ini juga dilakukan perhitungan ALT. Uji angka lempeng total merupakan metode yang umum digunakan untuk menghitung adanya bakteri yang terhadap dalam sediaan yang diperiksa. ALT dinyatakan sebagai jumlah

koloni bakteri hasil perhitungan dikalikan faktor pengenceran (Reski, Rozi, Fuadi., 2023). Dari hasil perhitungan tersebut didapat tabel berikut:

Tabel 1.5 Hasil Perhitungan Angka Lempeng Total Bakteri *E. Coli*

Sam pel	Jumlah Coloni Per Pengenceran												Nilai (ALT) (CFu/g)	
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶			Kontrol
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II		
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Dari hasil perhitungan ALT yang telah dilakukan didapatkan hasil nol (0) karena tidak terjadi pertumbuhan bakteri *E. Coli* pada media. Hal ini dapat terjadi karena tidak adanya kontaminasi bakteri pada sampel yang digunakan. Selain itu, alat dan bahan yang digunakan pada setiap tahap penelitian dalam keadaan steril dan prosedur dilakukan secara aseptik. Faktor lain yang menyebabkan hasil negatif ini juga dapat terjadi karena tidak digunakan media penyubur sebelum spesimen di tanam ke media tumbuh EMBA. Media pengaya atau penyubur adalah media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroba dengan maksud menyuburkan mikroba tersebut (Kurniati, dkk., 2018). Menurut penelitian Kusuma dan Hendrayana (2017), untuk mengidentifikasi bakteri *E. Coli* pada suatu sampel dapat pula menggunakan media penyubur seperti TSB (*Tryptic Soy Broth*) sebelum sampel dilanjutkan kultur pada media pertumbuhan atau media selektif.

Adapun faktor lain yang dapat berasal dari kondisi sanitasi dan higiene yang baik di tempat pengambilan sampel sehingga tidak terjadi kontaminasi bakteri. Hal ini dapat terjadi apabila kondisi sampel masih *fresh* atau baru

sehingga ada kemungkinan untuk kontaminasi, tetapi belum terjadi kontaminan dari pembeli ataupun anak-anak SD yang membeli jajanan.

Perhitungan Angka Lempeng Total pada plate sampel 3 yaitu jagung goreng positif pertumbuhan bakteri *Klepsiella* didapatkan hasil ALT $1,1 \times 10^3$ CFU/g dengan batas maksimum 1×10^6 CFU/g. Hasil tersebut menunjukkan angka cemarannya di bawah batas maksimum yang menunjukkan bahwa sampel jagung goreng tersebut masih layak atau masih dapat dikonsumsi.