

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Minuman

Minuman adalah cairan yang bisa diminum dan memiliki beberapa fungsi seperti mengatasi dahaga, meningkatkan selera makan, memberikan tenaga, dan membantu proses pencernaan. Ada tiga jenis utama dalam kategori minuman, yaitu minuman ringan, air mineral, serta minuman beralkohol dan non-alkohol (Salsabila, dkk., 2023).

B. Standar Kualitas Air Minum

Standar kualitas air minum telah ditetapkan dalam Peraturan Permenkes Nomor 2 Tahun 2023 secara kimiawi, fisik dan mikrobiologi:

1. Standar untuk kualitas air minum secara kimia sesuai Permenkes RI 2023: Apabila ada bahan kimia berbahaya dan logam berat dalam air minum, konsentrasinya harus sesuai dengan batas maksimum yang diizinkan.
2. Standar Kualitas air minum secara fisik menurut Permenkes RI 2023: tidak keruh, tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa.
3. Standar kualitas air untuk minum dari segi mikrobiologi menurut Permenkes 2023: mikrobiologi harus tidak mengandung bakteri yang dapat menyebabkan penyakit.

C. Sumber Cemaran Air Minum

Faktor-faktor yang mengakibatkan pencemaran pada air minum (es batu) adalah penanganan minuman yang tidak dilakukan sesuai dengan norma kebersihan, mulai dari bahan, peralatan, proses pengolahan, penyajian, hingga proses penyimpanan. Air minum yang tidak aman bisa menimbulkan berbagai

penyakit, seperti diare, hepatitis, keracunan timbal, kolera, amebiasis, tifus, trachoma, dan disentri (Cahaya, dkk., 2019).

D. Es Batu

1. Pengertian Es Batu

Es batu merupakan makanan yang dibuat dari pengaliran air minum yang dibekukan pada suhu 0°C. Proses ini mengakibatkan molekul hidrogen saling menarik, sehingga air bertransformasi menjadi bentuk padat. Karena air yang jernih, es batu terlihat seperti kristal. Es batu memiliki banyak kegunaan, terutama sebagai pelengkap dalam minuman. Menambahkannya memberikan sensasi dingin dan segar, yang sangat penting di Indonesia, sebagai negara tropis dengan suhu yang hangat. Oleh karena itu, penggunaan es batu cukup lazim di kalangan masyarakat Indonesia (Dwitami, dkk., 2024).

Es batu memiliki temperatur sangat dingin, yang berujung pada keyakinan bahwa es batu cukup aman untuk dimakan karena bakteri dalam air yang membeku telah mati. Namun pada suhu ini, mikroba belum tentu mati, hanya saja aktivitas mikroba cenderung menurun atau terhenti. Ini terjadi karena reaksi metabolisme pada mikroorganisme dipengaruhi oleh enzim, di mana kecepatan reaksi katalisis enzim sangat dipengaruhi oleh suhu. Beberapa penelitian membuktikan bahwa masih terdapat bakteri dalam es batu (Nurmalasari, dkk., 2019).



Gambar 1. Es Batu (Warsiyah dan Warniningsih, 2018)

<https://images.app.goo.gl/4TuXci3xF6FzrtLg7>

2. Bahan Baku Es Batu

Es batu dapat dihasilkan dari air mentah, namun es yang diperoleh umumnya berwarna putih dan tidak layak untuk dikonsumsi, terutama jika berasal dari air sungai yang tercemar. Sebaliknya, es yang dibuat dari air matang nampak jernih karena gas yang terlepas selama proses perebusan, dan dikenal sebagai es kristal.

Infeksi yang berasal dari air, dikenal sebagai infeksi *enterik*, terjadi ketika mikroorganisme masuk ke dalam tubuh melalui rute mulut-usus. Penyakit ini, termasuk tifus, diare, kolera, dan disentri, sering disebabkan oleh air yang tercemar. Sumber infeksi tersebut biasanya adalah tinja manusia atau hewan yang mengandung patogen *enterik*. Penularan melalui air dapat menyebabkan wabah infeksi *enterik* yang menjangkiti banyak orang (Fajriaty, 2016).

Salah satu jenis kontaminasi mikroba yang umum terjadi pada makanan atau minuman adalah bakteri *E. coli*. Makanan yang terkontaminasi *E. coli* dapat menyebabkan berbagai penyakit yang berhubungan dengan sistem pencernaan dan dapat membahayakan kesehatan konsumen (Arnawa, dkk., 2023)

E. *Escherichia Coli*

1. Pengertian *Escherichia Coli*

E. coli adalah salah satu jenis bakteri *coliform* yang tergolong dalam keluarga *Enterobacteriaceae*. *Enterobacteriaceae* adalah bakteri yang hidup di saluran pencernaan. *E. coli* berbentuk batang, bersifat Gram-negatif, dapat hidup tanpa oksigen, tidak membentuk spora, dan merupakan bagian dari flora normal di usus manusia. Beberapa strain dari bakteri ini memiliki manfaat bagi manusia, seperti menghalangi pertumbuhan bakteri patogen di saluran pencernaan. Namun, ada juga beberapa kelompok lain yang bisa menyebabkan penyakit pada manusia, yang dikenal dengan sebutan *E. coli* patogen (Sugawara & Nikaido, 2014).



Gambar 2. Bakteri *Escherichia coli* (Di bawah mikroskop)

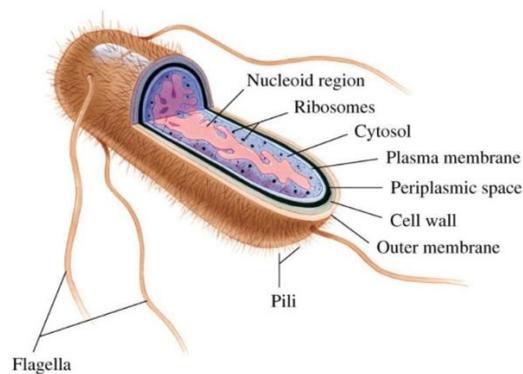
<https://images.app.goo.gl/kd4NDszyUepQRc1x6>

2. Morfologi *Escherichia Coli*

Bakteri *E. coli* adalah mikroba berbentuk batang (*basil*) pendek, bersifat gram negatif yang dapat membentuk rantai, dengan ukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 μm . Bakteri ini bersifat fakultatif *anaerobik*, mampu hidup sendirian maupun dalam kelompok, bergerak dan tidak mampu membentuk spora. Bakteri ini juga memiliki fimbria atau pili yang

berfungsi untuk melekat pada sel hospes dan bakteriofag, serta untuk melekat pada bakteri lainnya (Cahyaningtyas, dkk., 2024).

Struktur sel *E. coli* dikelilingi oleh membran sel, yang terdiri dari sitoplasma yang mengandung nucleoprotein. Membran sel *E. coli* dilapisi oleh dinding sel yang berlapis kapsul. Flagela dan pili *E. coli* menjulur dari permukaan sel. Dinding sel terdiri dari murein, lipoprotein, fosfolipid, protein, dan lipopolisakarida (LPS), semuanya disusun dalam lapisan-lapisan. Lapisan murein-lipoprotein merupakan 20% dari dinding sel dan bertanggung jawab terhadap kekuatan seluler. Sisa 80% berkaitan dengan lipid dari lipoprotein untuk membentuk bilayer lipid. (LPS) berperan dalam aktivitas endotoksik dan mengandung rantai polisakarida tertentu yang menentukan antigenitas dari berbagai spesies (Cahyaningtyas, dkk., 2024).



Gambar 3. Struktur Bakteri *E. coli*

<https://images.app.goo.gl/R5ddXUWazbncb8cs6>

F. Uji identifikasi Bakteri *Escherichia Coli*

1. Uji Media LB

Pengujian menggunakan media LB dilakukan untuk mengetahui adanya bakteri *coliform* dengan cara mengamati pembentukan asam dan gas dari fermentasi laktosa. Jika terdapat kekeruhan pada media LB dan gelembung gas dalam tabung Durham, itu menandakan hasil yang positif. Tabung dianggap positif jika gas yang dihasilkan mencapai 10% atau lebih dari total volume tabung.

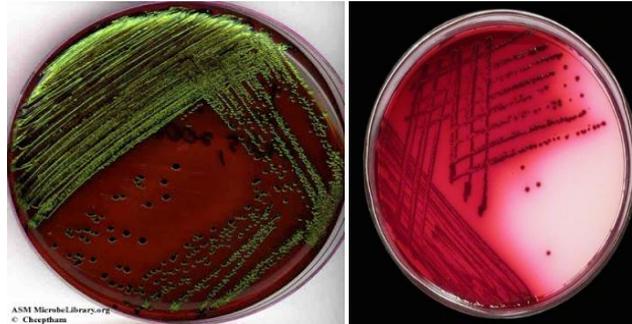


Gambar 4. Uji LB

<https://images.app.goo.gl/Y7JydS8DmSNsKG147>

2. Uji Media EMBA dan ENDO

Pengujian lanjutan merupakan tes untuk memastikan keberadaan bakteri *E. coli*. Hasil positif pada media LB yang menghasilkan gas, suspensi ditransfer ke media *Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)* dan media ENDO agar dengan cara aseptis. Koloni *E. coli* yang berkembang pada media EMBA berwarna hijau dengan kilau metalik dan koloni pada media ENDO berwarna merah gelap dengan kilau metalik (Castro, 2019).

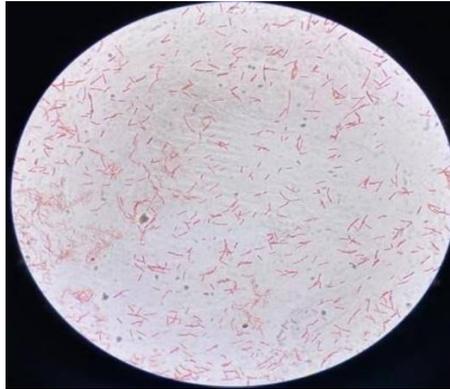


Gambar 5. Media EMBA dan Media ENDO
<https://images.app.goo.gl/3F5g86hHzY7siUPT8>

3. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram adalah teknik yang digunakan untuk mengategorikan organisme menjadi dua kelompok, yaitu gram positif dan gram negatif. Pengelompokan ini dilakukan berdasarkan komposisi kimia serta ketahanan struktural dinding sel bakteri. Proses pewarnaan gram dipengaruhi oleh reaksi dinding sel bakteri terhadap safranin dan kristal violet. Pewarna yang dipakai dalam prosedur pewarnaan gram bisa bersifat basa atau asam. Kromofor, yang merupakan pewarna basa dan memiliki muatan positif, berfungsi untuk menghasilkan warna. Di sisi lain, warna negatif yang memiliki muatan negatif memberikan warna karena adanya muatan yang berlawanan.

Pewarnaan Gram terdiri dari 4 jenis pewarnaan sintetik. “Pewarnaan Gram A berwarna ungu karena memiliki kristal violet, pewarnaan Gram B berwarna coklat karena mengandung iodium, pewarnaan Gram C tidak berwarna/bening, pewarnaan Gram D berwarna merah karena mengandung safranin” (Damayanti, dkk., 2024).



Gambar 6. *E. Coli* Pewarnaan Gram

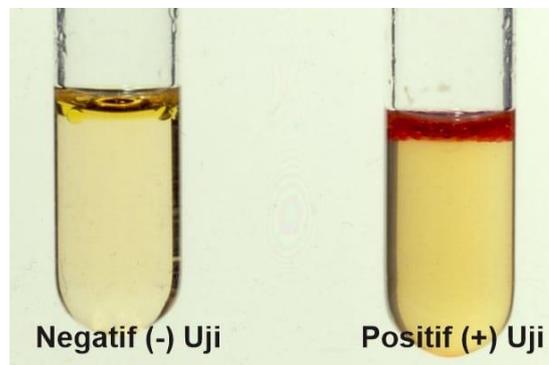
<https://images.app.goo.gl/ea5dRpYsXM3FFmTs7>

4. Uji Biokimia (IMVIC)

Uji biokimia dilakukan untuk membedakan jenis-jenis kuman *coliform* yang telah dibiakkan:

a. Uji Indol

Uji indol bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan enzim triptophanase yang mengubah asam amino triptophan menjadi indol. Pemberian reagen Ehrlich/Kovac's akan menunjukkan hasil pengujian: negatif (-) jika tidak terlihat warna merah, dan positif (+) jika terdapat cincin merah di permukaan kultur. *E. coli* umumnya menunjukkan hasil positif, ditandai dengan cincin merah.



Gambar 7. Uji Indol

<https://images.app.goo.gl/kSYs5uL6R197Te2W8>

b. Uji *Methyl Red* (MR)

Uji MR berfungsi untuk mendeteksi fermentasi asam campuran (metilen glikon) pada bakteri. Hasil negatif (-) ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna setelah menambahkan *methyl red*, sedangkan hasil positif (+) ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. *E. coli* memproduksi asam yang kuat, sehingga menunjukkan hasil positif dengan cincin merah di permukaan tabung setelah penambahan indikator *methyl red*.

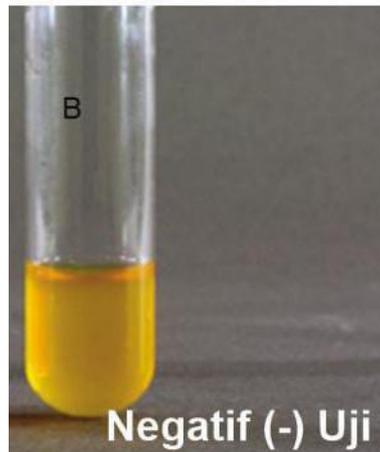


Gambar 8. Uji *Methyl Red*

<https://images.app.goo.gl/CWsQ6UyikvLGddaf8>

c. Uji *Voges-Proskauer* (VP)

Uji VP digunakan untuk mengevaluasi hasil fermentasi glukosa yang menghasilkan asetoin (asetil metil karbinol). Hasil negatif (-) ditunjukkan dengan tidak terjadinya perubahan warna setelah reagen a naphthol dan KOH ditambahkan, sementara hasil positif (+) ditunjukkan oleh perubahan warna menjadi merah. *E. coli* tidak menghasilkan asetoin, sehingga menunjukkan hasil negatif pada media *Voges-Proskauer*.

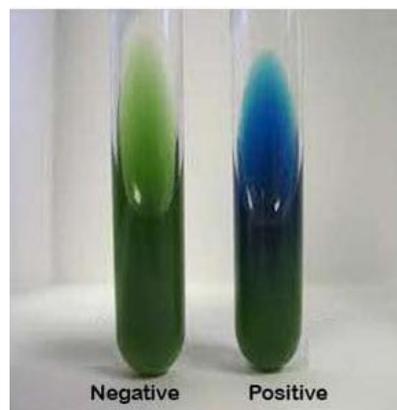


Gambar 9. Uji VP

<https://images.app.goo.gl/CWsQ6UyikvLGddaf8>

d. Uji Citrat

Uji citrat dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri bisa memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon. Hasil negatif (-) ditunjukkan dengan tidak adanya pergeseran warna dari hijau menjadi biru, sementara hasil positif (+) ditunjukkan dengan perubahan warna tersebut. *E. coli* tidak menggunakan sitrat, yang mengakibatkan hasil negatif pada uji ini (Rifta & Durindiati, 2016).



Gambar 10. Uji Simon Citrat

<https://images.app.goo.gl/h6cGDdPuPrUXsmmWA>

e. Uji TSIA

Uji TSIA digunakan untuk membedakan anggota bakteri *Enterobacteriaceae* dan untuk membedakan mereka dari batang Gram-negatif lainnya seperti *Pseudomonas*. Hasil uji TSIA pada isolat *E. coli* menunjukkan perubahan warna kuning pada media pada bagian miring (slant) dan bawah (butt) dan muncul gas yang menyebabkan media jadi terangkat, akan tetapi tidak terlihat adanya H₂S. Hal ini bisa terjadi karena adanya perubahan warna kuning pada media TSIA menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* dapat memfermentasi glukosa yang menghasilkan gas. Gas yang muncul ini akan mengangkat agar dari bagian bawah tabung (Puspita, dkk., 2020).

G. Keaslian Penelitian

Tabel 2.1. Keaslian Penelitian

No	Judul	Nama/tahun penerbit	Hasil penelitian	Perbedaan penelitian
1	Uji kualitas mikrobiologi Es Batu pada rumah makan di lingkungan kampus Universitas Sam Ratulangi Manado	Lingkan R.H. Boimau dkk, (2023)	Hasil pemeriksaan jumlah <i>coliform</i> total Es batu pada rumah makan di lingkungan kampus Universitas Sam Ratulangi Manado >240MPN/100ml.dan tidak memenuhi syarat kesehatan	Lokasi dan waktu penelitian
2	Identifikasi keberadaan Bakteri <i>Escherichia Coli</i> dan <i>Coliform</i> pada Es Teh yang dijual di sekitar kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta	Aldi Ardian dkk, (2023).	Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa es teh kemasan yang dijual di sekitar kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta menunjukkan hasil dari 14 sampel yang diuji di laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Surakarta: Terdapat 6 (42,8%) yang terdeteksi mengandung bakteri <i>coliform</i> dan dianggap tidak	Lokasi dan waktu penelitian

				aman untuk diminum karena melebihi batas yang ditetapkan dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 mengenai kualitas air minuman yang mengharuskan <i>coliform</i> 0/100 ml. Selain itu, dari 14 sampel, tidak ditemukan bakteri <i>Escherichia coli</i> dalam es teh tersebut.	
3	Analisis keberadaan <i>coliform</i> dan <i>Escherichia coli</i> pada Es batu dari jajanan minuman di pasar tengah Bandar Lampung	Efrida Alifia dkk, (2021)	Siti	Berdasarkan penelitian yang di lakukan dapat diambil kesimpulan yaitu semua sampel Es batu positif mengandung bakteri <i>Coliform</i> . Cemaran bakteri <i>E. coli</i> terdapat 3 sampel yaitu sampel C, G dan H. dengan demikian semua sampel belum memenuhi peraturan permenkes Nomor 2 Tahun 2023 yang mensyaratkan Coliform dan bakteri <i>E. Coli</i> dalam volume 100/ml	Lokasi dan waktu penelitian
4	Analisis kualitas bakteriologis Es batu di lingkungan pasar kota Gede Yogyakarta	Warsiyah dkk, (2018).		Hasil penelitian menyatakan bahwa penyimpanan dan pengolahan es batu tidak memenuhi syarat kesehatan, sedangkan kandungan <i>coli</i> tinja pada es batu melebihi syarat kesehatan yaitu di atas 0 MPN /100ml	Lokasi dan waktu penelitian
5	Identifikasi bakteri <i>Escherichia Coli</i> pada Es dawet di Kec Bluluk Kab Lamongan	Anisa yuni Maisyaroh, (2021).		Berdasarkan Hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa Es dawet tidak terkontaminasi bakteri <i>Escherichia coli</i> tetapi terkontaminasi oleh bakteri yang lain yaitu <i>Klebsiella sp</i> yang termasuk bakteri <i>Coliform</i>	Lokasi dan waktu penelitian