

Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Bahan Pangan Berbasis Daging Di Kota Kupang

Dedi Irianto Bria^{1*}, Hildegardis Missa², Imelda Tidora Sombo³

^{1,2,3}Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan
Universitas Katolik Widya Mandira Kupang.
Email Corespondent*: dedibriacon.id@gmail.com

Abstrak

Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang rentan mencemari salome dan dapat menyebabkan diare atau foodborne diseases karena ke higienisan makanan yang kurang.. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada produk olahan daging di Kota Kupang. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan teknik pengambilan sampel purposive sampling. Isolasi bakteri menggunakan media EMBA, perhitungan populasi dilakukan dengan metode hitung cawan. Karakterisasi makroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk morfologi koloni berbeda pada cawan sehingga didapatkan isolat bakteri *Escherichia coli*. Karakteristik mikroskopisnya dilakukan dengan metode pewarnaan gram dan diamati menggunakan mikroskop cahanya. Hasil penelitian diperoleh populasi bakteri *Escherichia coli* dari pengenceran 10^{-3} di Taman Nostalgia yaitu $8,4 \times 10^4$ CFU / ml, SMPN 1 Kupang yaitu $8,4 \times 10^4$ CFU / ml, SDK St. Yoseph 1 Kupang yaitu 5×10^4 CFU / ml dan SMAN 1 Kupang $1,11 \times 10^5$ CFU / ml. Karakterisasi makroskopis pada empat lokasi memiliki bentuk, elevansi, dan tepian yang sama. Karakteristik mikroskopis dilakukan melalui metode pewarnaan gram dengan hasil semua isolat bakteri merupakan bakteri gram negatif yang memiliki bentuk sel coccus, dan susunan sel tunggal.

Kata Kunci: Isolasi dan Karakterisasi, Bakteri *Escherichia coli*, Salome

Abstract

Escherichia coli bacteria are one of the bacteria that are susceptible to contaminating salome and can cause diarrhea or foodborne diseases due to poor food hygiene. This study aims to determine the presence of *Escherichia coli* bacteria in processed meat products in Kupang City. This research is a descriptive research with purposive sampling technique. Isolation of bacteria using EMBA media, population calculation is done by counting the plate. Macroscopic characterization was carried out by observing the morphology of the different colonies on the plate to obtain *Escherichia coli* bacteria isolates. The microscopic characteristics were carried out using the Gram stain method and observed using a light microscope. The results showed that the population of *Escherichia coli* bacteria from a 10^{-3} dilution in Taman Nostalgia was 8.4×10^4 CFU / ml, SMPN 1 Kupang was 8.4×10^4 CFU / ml, SDK St. Yoseph 1 Kupang ie 5×10^4 CFU / ml and SMAN 1 Kupang 1.11×10^5 CFU / ml. The macroscopic characterization at the four locations had the same shape, elevation, and edge. Microscopic characteristics were carried out using the gram staining method with the results that all bacterial isolates were gram-negative bacteria that had a coccus cell shape and single cell arrangement.

Keywords: Isolation and Characterization, *Escherichia coli* Bacteria, Salome.

PENDAHULUAN

Berdasarkan Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 7 Tahun 1996 tentang Pangan dan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 28 Tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu, dan Gizi Pangan, pangan

didefinisikan sebagai segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah, yang diperuntukkan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan,

dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan atau pembuatan makanan atau minuman.

Namun, Sumber pangan dapat membawa infeksi pada manusia jika salah pengolahan. Infeksi melalui makanan disebabkan oleh masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang terkontaminasi dan tubuh memberikan reaksi terhadap bakteri tersebut yang dapat menyebabkan penyakit pada saluran cerna. Bakteri yang paling banyak menyebabkan infeksi melalui makanan diantaranya adalah *E. Coli* (Mayaserli & Anggraini, 2019)

Escherichia coli merupakan bakteri yang termasuk flora normal yang terdapat di saluran pencernaan ternak dan manusia. Strain *E. coli* yang bersifat patogen dan dapat menimbulkan infeksi dan food borne disease adalah *E.coli* O157:H7 yang menghasilkan shiga toxin (Elsie & Harahap, 2016). Adanya cemaran bakteri *E. coli* yang melebihi batas maksimal, telah banyak dilaporkan dapat menyebabkan masalah kesehatan bagi manusia diantaranya diare, meningitis, dan Sindrom Uremik Hemolitik (HUS) serta menurut (Trisno dkk. 2019), infeksi bakteri ini dapat bersifat fatal dan menyebabkan septicemia, juga keberadaannya dapat meningkatkan keparahan suatu penyakit. Infeksi bakteri *E. coli* pada manusia dapat terjadi melalui kontak langsung, melalui daging yang tidak dimasak dengan

sempurna, dan melalui produk olahan yang berasal dari daging karena komposisi daging baik sebagai media pertumbuhan mikroorganisme.

Fitrianti (2017) menyatakan bahwa daging dan produk olahan daging sapi merupakan pangan yang bersifat *Perishable food* (pangan mudah rusak) karena sangat rentan terkontaminasi oleh mikroorganisme pembusuk maupun mikroorganisme patogen.

Sesuai dengan Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia tentang pedoman persyaratan higienis sanitasi makanan jajanan yang terdapat beberapa aspek yang diatur dalam penanganan makanan jajanan. tetapi pada kenyataannya pedagang di Indonesia khususnya di Kota Kupang kurang memahami prosedur kebersihan seperti contoh membiarkan makanan terbuka ketika tidak ada pembeli, proses pencucian peralatan makan yang terkadang tidak menggunakan sabun, membiarkan sampah terbuka dan letaknya berdekatan dengan tempat penyajian, sehingga dengan kondisi tersebut sangatlah mudah makanan untuk terkontaminasi.

Salah satu produk olahan daging yang terkenal dan sangat digemari masyarakat Kota Kupang adalah salome . Salome merupakan salah satu produk olahan daging baik dari daging ayam, daging sapi, dan daging ikan sebagai bahan pokok serta

bumbu yang kemudian dimasak dengan pengukusan yang disajikan dengan variasi yang berbeda. Dengan adanya variasi tersebut salome dapat membawa bakteri yang bisa menyebabkan diare atau *foodborne diseases* yang masuk saat dikonsumsi.

Salome ketika dihidangkan terlebih dahulu diambil dari pemanas atau pengukus yang fungsinya memanaskan dan mensterilkan selama proses penjualannya. Masyarakat berasumsi ketika mengonsumsi hidangan dengan hangat tidak dapat tercemar bakteri tetapi setiap bakteri mempunyai suhu yang berbeda untuk pertumbuhannya. Walaupun tetap dihangatkan dan disterilkan, proses kontaminasi bakteri dapat terjadi saat salome dikeluarkan dari pemanas atau pengukus melalui pencampuran bumbu tambahan seperti saus kacang dan saus tomat, pembungkusan yang menggunakan plastik, tusuk sate, sendok, garpu, mangkuk, penjual yang tidak menggunakan sarung tangan dan masker serta kebersihan tempat berjualan.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2022. Pengambilan sampel salome dilakukan di 4 tempat, yakni SDK St. Yoseph 1 Kupang, SMPN 1 Kupang, SMAN 1 Kota Kupang dan Taman Nostalgia Kupang sedangkan isolasi dan karakterisasi

bakteri dan pewarnaan gram dilakukan di Laboratorium Pendidikan Biologi Universitas Nusa Cendana Kupang.

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode *purposive sampling* yaitu penarikan sampel dengan pertimbangan tertentu, pertimbangan tersebut didasarkan pada tujuan penelitian. Pertimbangan tertentu yang digunakan dalam pengambilan sampel pada beberapa tempat yaitu tempat yang terdapat penjual salome dan banyak peminat.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beker (250mL dan 500mL), tabung erlenmeyer (250 ml dan 500 ml), tabung ukur (100 ml dan 10 ml), tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, bunsen, spatula, pipet, ose, batang L, korek api, tip (1000 μ dan 100 μ), mikropipet (1000 μ L dan 100 μ L), autoklaf, inkubator, laminar airflow, timbangan, hot plate, magnetic stir, kapas, kamera HP, Mikroskop cahaya, alat tulis, masker, mikroskop, kristal violet, lugol, aseton alkohol, safranin, minyak immersi, dan kapas kering. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah salome, dan Eosin Methylen Blue Agar (EMB).

Prosedur Penelitian

Sterilisasi Alat dan Bahan

Bahan dan alat disterilisasi dengan dua cara yaitu sterilisasi basah dan sterilisasi kering. Alat dan bahan yang disterilisasi basah dalam autoklaf yaitu media EMBA,

akuades dalam tabung Erlenmeyer dan tabung reaksi, kaca obyek, dan tip. Bahan dan alat baik yang belum digunakan dan sudah digunakan terlebih dahulu dibungkus dengan plastik tahan panas (aluminium foil), lalu dimasukkan kedalam autoklaf selama $\pm$ 20 menit pada tekanan 1atm dengan suhu 121°C . Alat yang disterilisasi kering dalam oven seperti cawan petri, spatula dan pinset. Sebelum dimasukan ke dalam oven, alat - alat telah dibungkus dengan aluminium foil. Kemudian masukkan kedalam oven $\pm$ 20 menit hingga mencapai suhu 121°C (Missa & Baunsele, 2020).

2. Pengambilan sampel

Sampel yang telah dibeli dimasukkan di lemari es dengan suhu 30 C sehingga kondisi sampel tidak mengalami perubahan. Sebelum sampel digunakan, terlebih dahulu ditimbang dengan ukuran 1 gram kemudian dihaluskan sampai halus dan encer menggunakan mortar dan pestle.

3. Pembuatan media *eosin methylene blue agar* /EMBA

Media EMBA dibuat dengan mencampurkan komposisi media EMBA 11,5 gram pada erlenmeyer kemudian ditambah aquades sebanyak 100 ml lalu diaduk menggunakan magnetic stirrer. Kemudian erlemeyer diletakan di atas hot plate dan lubang erlemeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil, disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C

dalam waktu 15 menit. Kemudian Media EMBA dituang ke dalam cawan petri dan disimpan pada suhu 37°C , kemudian ditunggu hingga padat.

4. Isolasi Bakteri *Escherichia coli* dengan Metode *Spread Plate*

Isolasi bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan menimbang salome sebanyak 1 gram dan dihaluskan menggunakan mortar dan pestle. Selanjutnya dilakukan pengenceran pada salome yang telah dihaluskan kedalam 10 ml aquades steril secara aseptik. kemudian dibuat seri pengenceran sampai 10^{-3} , dari seri pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-3} diambil 10 tetes dan disebar pada media EMBA dengan teknik cawan sebar (*Spread Plate*), lalu diinkubasi selama 5 hari (Parida dkk. 2017).

5. Koloni bakteri *Escherichia coli*

Pengamatan koloni bakteri *Escherichia coli* yang diinokulasi pada media EMBA dilakukan setelah diinkubasi 5 hari, dengan metode hitung cawan yaitu jumlah koloni 25-250 dipilih kemudian dihitung jumlahnya masing- masing koloni dalam cawan berdasarkan penampakan morfologinya.

6. Pewarnaan Gram

Bakteri yang telah tumbuh di media (EMBA) akan dilakukan pewarnaan Gram. Mula-mula aquades diambil menggunakan pipet tetes lalu teteskan diatas kaca objek, Panaskan ose diatas api, lalu ambil koloni bakteri dalam media menggunakan ose dan

oleskan pada kaca objek yang telah ditetaskan akuades steril. Keringkan diatas api kecil atau diamkan hingga mengering dengan sendirinya. Teteskan Kristal Karbol Ungu (KKU) atau Gentian Violet, diamkan selama 30 detik dan bilas dengan air mengalir. Teteskan lugol, diamkan selama 30 detik dan bilas dengan air mengalir. Teteskan alkohol 96% hingga tidak ada lagi larutan ungu yang luntur. Teteskan safranin, diamkan selama 30 detik dan bilas dengan air mengalir. Keringkan dengan menggunakan tisu dengan tidak mengusap bagian atas gelas objek. Beri minyak immersi dan lihat dibawah mikroskop pembesaran 100x (Fajriyah, 2021)

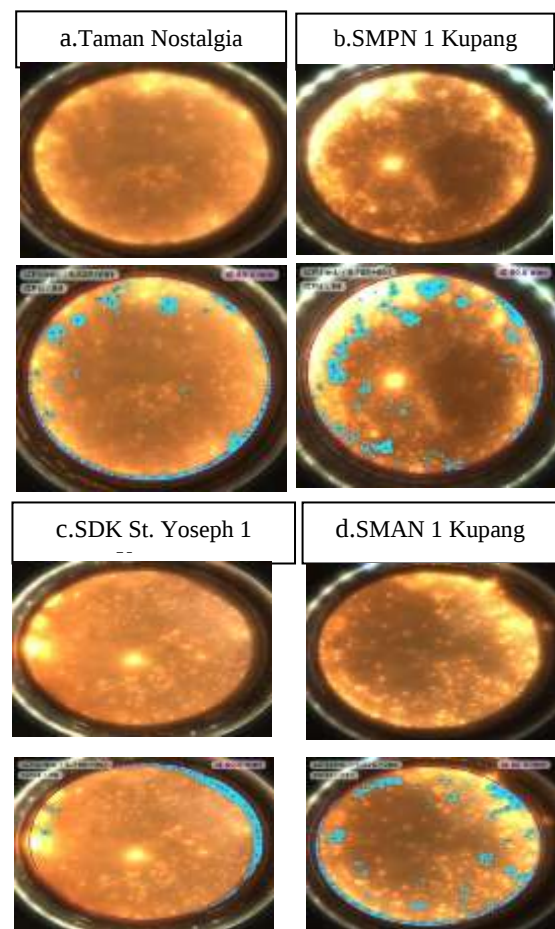
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Jumlah Koloni bakteri *Escherichia coli* pada salome di kota Kupang berdasarkan metode hitung cawan

No	Lokasi pengambilan sampel	Koloni bakteri/g salome
1	Salome pada Taman Nostalgia	$8,4 \times 10^4$ CFU/ml
2	Salome pada SMPN 1 kupang	$8,4 \times 10^4$ CFU/ml
3	Salome pada SDK St. Yoseph 1 kupang	5×10^4 CFU/ml
4	Salome pada SMAN 1 Kupang	$1,11 \times 10^5$ CFU/ml

Berdasarkan Tabel diatas terdapat jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang beragam dari masing-masing lokasi pada seri pengenceran 10^{-3} . Dua diantaranya memiliki jumlah koloni yang sama yaitu

$8,4 \times 10^4$ pada lokasi 1 dan 2. Sedangkan pada lokasi 3 memiliki jumlah koloni 5×10^4 dan pada lokasi 4 memiliki jumlah koloni $1,11 \times 10^5$. Jadi, jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* tumbuh karena beberapa faktor baik dari proses pengolahan salome, penyajian, penyimpanan, dan kebersihan lingkungan.



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri *Escherichia coli* dari salome pada media EMBA

Pada media EMB dapat digunakan untuk isolasi dan differensiasi bakteri enterik atau Coliform. Menurut Romadhon, (2012) bakteri yang diinokulasi pada media EMB menghasilkan koloni ungu kehitaman dengan kilap hijau logam merupakan bakteri

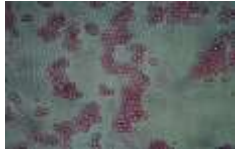
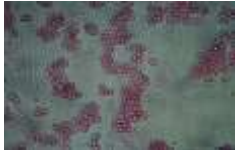
Escherichia coli. Menurut Romadhon, (2012) menyatakan bahwa media EMB mengandung laktosa sehingga dapat membedakan golongan bakteri dengan kemampuan dalam memfermentasi laktosa, bakteri yang dapat memfermentasi laktosa salah satunya adalah *Escherichia coli*, bakteri ini merupakan bakteri yang dapat memfermentasi laktosa dengan cepat dan memproduksi banyak asam sehingga dapat menghasilkan warna koloni hijau kilap logam. Dari hasil identifikasi karakteristik morfologi, ditemukan 4 isolat bakteri *Escherichia coli* berdasarkan empat lokasi yang telah dilakukan pengambilan sampel.

Tabel 2. Karakterisasi morfologi isolat bakteri *Escherichia coli* pada produk olahan daging di kota Kupang

Tempat	Morfologi		
	Bentuk	Elevansi	Tepian
Taman Nostalgia Kupang	Bundar	Cembung	Licin
SMPN 1 Kupang	Bundar	Cembung	Licin
SDK St.Yoseph 1 Kupang	Bundar	Cembung	Licin
SMAN 1 Kupang	Bundar	Cembung	Licin

Pengamatan morfologi koloni bakteri *Escherichia coli* di atas dapat diketahui bahwa, pada keempat lokasi memiliki karakteristik yang sama. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Hidayati dkk, 2016) bahwa bakteri *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Azmin *et al*, 2021).

Tabel 3. Hasil Pewarnaan gram Isolat bakteri *Escherichia coli* pada produk olahan daging di kota Kupang

Karakter morfologi isolat			
Dokumentasi Pewarnaan Gram	Bentuk sel	Susunan sel	Gram
Sampel 1 	Coccus	Tunggal	Negatif (-)
Sampel 2 	Coccus	Tunggal	Negatif (-)
Sampel 3 	Coccus	Tunggal	Negatif (-)
Sampel 4 	Coccus	Tunggal	Negatif (-)

Hasil identifikasi bentuk mikroskopis yang didapatkan dengan metode pewarnaan gram Pewarnaan gram ini bertujuan untuk mengetahui bentuk sel dan susunan sel bakteri sehingga dapat disimpulkan bakteri tersebut termasuk kedalam bakteri gram positif atau negatif. Berdasarkan Tabel diketahui bahwa isolat bakteri dari setiap sampel memiliki hasil yang sama yaitu memiliki bentuk sel coccus dengan susunan sel tunggal dan bergram negatif, hal ini sejalan dengan Rahayu, Dkk. (2018) pada bukunya yang berjudul *Escherichia coli* Patogenitas, Analisis, dan Resiko yang

menyatakan *Escherichia coli* memiliki gram negatif. Penelitian Prasetya Dkk. (2019) juga menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian ini yaitu bakteri *Escherichia coli* memiliki gram negatif.

Berdasarkan hasil penelitian diatas, dapat dijelaskan bahwa bakteri *Escherichia coli* dapat ditemukan pada pentolan salome di empat lokasi yang berbeda. Bakteri *Escherichia coli* ditemukan pada sampel salome karena dilakukan isolasi bakteri. Hasil dari isolasi ini menunjukkan bahwa bakteri dapat tumbuh dan berkembang serta masing-masing lokasi. Sumber penyakit yang mungkin mencemari makanan dapat terjadi selama proses produksi yang dimulai dari pemeliharaan, pemanenan atau penyembelihan, pembersihan atau pencucian, persiapan makanan atau pengolahan, penyajian serta penyimpanan. Selain hal tersebut sekarang juga masih terdapat penggunaan bahan-bahan kimia dalam produksi makanan, sehingga dengan sendirinya resiko kontaminasi oleh bahan kimia juga tidak sedikit.

Setelah dilakukan isolasi dan diketahui bahwa Bakteri *Escherichia coli* memiliki jumlah koloni yang beragam mulai, hal ini disebabkan oleh banyak faktor baik itu dari kebersihan alat, bahan, proses pengolahan, penyajian, lingkungan sekitar, dan ramainya pembeli yang berdesak-desakan sehingga sangat rentan terkontaminasi oleh bakteri.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa pada sampel salome diempat lokasi yang berbeda dan telah dilakukan isolasi, ditemukan bakteri *Escherichia coli* dengan jumlah koloni pada masing – masing sampel berbeda – beda. Jumlah koloni tertinggi pada sampel dari SMAN 1 Kupang dan terendah dari SDK St. Yoseph 1 Kupang, hal ini menunjukkan bahwa faktor kebersihan baik alat dan bahan, proses pengolahan, penyajian, penyimpanan dan lingkungan menjadi penentu bakteri *Escherichia coli* mengkontaminasi suatu produk olahan atau tidak. Dari hasil isolasi bakteri *Escherichia coli*, didapatkan karakteristik bakteri *Escherichia coli* yang sama yaitu berbentuk bundar, berelevansi cembung dan tepian licin serta ditemukan bentuk mikroskopis yakni memiliki bentuk sel coccus atau bundar dan memiliki susunan sel tunggal dari hasil pewarnaan gram.

DAFTAR PUSTAKA

- Azmin, N., Nasir, M., Hartati, H., Ariyansyah, A., & Fahrudin, F. (2021, April). Traditional Medicinal Plants in Bima Communities: A Bacterial Activities Test and Phytochemicals. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 755, No. 1, p. 012067). IOP Publishing.
- Elsie, -, & Harahap, I. (2016). Isolasi *Escherichia coli* Pada Daging Sapi Segar Yang Diperoleh Dari Beberapa Pasar Tradisional Di Pekanbaru. *Photon: Jurnal Sain Dan Kesehatan*,

- 7(01), 121–126.
- Fajriyah, L. (2021). Identifikasi Cemarkan Listeria Pada Susu Kambing Kuncen Farm Mijen Semarang. *Industry and Higher Education*, 3(1), 1689–1699.
- Fitrianti, A. T. (2017). Mengenal Beberapa Bakteri Patogen Pada Daging. *Direktorat Jenderal Kesehatan Masyarakat Veteriner*, 1(3), 1.
- Mayaserli, D. P., & Anggraini, D. (2019). Identifikasi Bakteri Escherichia Coli Pada Jajanan Bakso Tusuk Di Sekolah Dasar Kecamatan Gunung Talang. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*, 6(1), 30–34.
- Missa, H., & Baunsele, A. B. (2020). Jenis Dan Populasi Bakteri Ice Nucleation Active Penyebab Luka Beku Pada Daun Jeruk Keprok Soe Di Dataran Tinggi Mutis. *Agro Bali: Agricultural Journal*, 3(2), 127–135.
<https://doi.org/10.37637/ab.v3i2.585>
- Parida, I., Damayanti, T. A., & Giyanto, G. (2017). Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Endofit sebagai Agens Penginduksi Ketahanan Padi terhadap Hawar Daun Bakteri. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 12(6), 199.
- Trisno, K., Tono, K. P., & Gusti Ketut Suarjana, I. (2019). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Escherichia Coli dari Udara pada Rumah Potong Unggas Swasta di Kota Denpasar. *Indonesia Medicus Veterinus*, 8(5), 2477–6637.
- .