JUMLAH BAKTERI *COLIFORM* DAN DETEKSI *Escherichia coli* PADA DAGING AYAM DI PEKANBARU

Usna Juwita, Yuli Haryani, Christine Jose

Mahasiswa Program Studi S1 Kimia
Bidang Biokimia Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
usna_una_na@yahoo.com

ABSTRACT

Coliform bacteria are often referred as indicator organisms to indicate the potential presence of disease-causing bacteria. *Escherichia coli* is a type of Coliform bacteria. Most *Escherichia coli* are harmless and commonly found in the intestines of humans and animals. However, some strains can cause illness. Coliform bacteria and *Escherichia coli* contamination in chicken could be detected using Most Probable Number (MPN) multi-step assay which consists of presumptive, confirmed, and completed test. The aim of this study was to determine the number of Coliform bacteria contamination and to detect *Escherichia coli* in 15 chicken meat samples collected from 3 traditional markets and 3 modern markets in Pekanbaru. Estimated numbers of Coliform bacteria in samples were varied from $2.1x10^4$ MPN/g to $>11x10^5$ MPN/g. We found that chicken samples were contaminated by *Escherichia coli*, which showed colour changes and bubles production in EC broth and the appearence of dark centered colony with metallic shine on EMB Agar.

Keywords: Most Probable Number (MPN) multi step-assay, Coliform, *Escherichia coli,* chicken.

ABSTRAK

Bakteri *Coliform* biasa digunakan sebagai organisme indikator untuk menunjukkan adanya potensi penyakit yang disebabkan bakteri. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri *Coliform*. Sebagian besar *Escherichia coli* tidak berbahaya dan bisa dijumpai pada saluran pencernaan manusia dan hewan. Namun, ada beberapa strain yang bisa menyebabkan penyakit. Kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging ayam bisa dideteksi menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) *multi-step assay*, yang terdiri dari *presumptive*, *confirmedt*, dan *completed test*. Penelitian ini bertujuan untuk menghitung jumlah cemaran bakteri *Coliform* dan deteksi *Escherichia coli* pada 15 sampel daging ayam dari 3 pasar tradisional dan 3 pasar modern di Pekanbaru. Perkiraan jumlah bakteri *Coliform* pada sampel bervariasi, mulai dari $2,1x10^4$ MPN/g hingga $>11x10^5$ MPN/g. Semua sampel daging ayam telah terkontaminasi *Escherichia coli,* yang memperlihatkan perubahan warna dan gelembung

gas pada EC *broth* dan berupa koloni berwarna gelap disertai kilap logam pada EMB *Agar*.

Kata kunci: *Most Probable Number* (MPN) *multi step-assay*, *Coliform*, *Escherichia coli,* daging ayam.

PENDAHULUAN

Kontaminasi feses bisa terjadi karena rendahnya tingkat kebersihan selama proses pengolahan makanan dan ditunjukkan dengan adanya bakteri *Coliform* (Keeratipibul dkk., 2009). Bakteri *Coliform* mampu menyebabkan diare (Yuliastuti, 2011) dan dengan adanya bakteri ini, kemungkinan bakteri patogen juga ada. Oleh karena itu, bakteri *Coliform* merupakan tanda awal untuk mengambil langkah pencegahan penyakit yang berasal dari makanan dan minuman (*foodborne diseases*) (U.S. Department of Health and Human Service, 2005).

Salah satu bakteri yang sering terdeteksi bersamaan dengan bakteri *Coliform* adalah *Escherichia coli*. Bakteri Gram negatif berbentuk batang ini ada di saluran pencernaan ternak dan manusia, serta bisa dijumpai di air maupun tanah. *Escherichia coli* biasanya tidak berbahaya dan bersifat menguntungkan bagi manusia karena membantu mencegah pertumbuhan beberapa bakteri berbahaya di saluran pencernaan dengan persaingan nutrisi dan oksigen. Namun, adanya *Escherichia coli* pada makanan dan air menunjukkan kurangnya kebersihan dan adanya kontaminasi *fecal* (Lim, 1998; Rahadi, 2011).

Kontaminasi pada daging ayam bisa saja terjadi dari cara pemeliharaan ayam, proses pemotongan ayam, tenaga kerja rumah potong, proses pengolahan daging ayam, proses distribusi, kondisi penyimpanan, dan pengolahan menjadi produk makanan serta saat dimasak hingga penyajian makanan. Secara keseluruhan proses-proses tersebut berhubungan antara satu sama lain (Rahadi, 2011; Sartika dkk., 2005). Selain itu, kondisi di pasar tradisional maupun modern juga mempermudah terjadinya kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging ayam dikarenakan tata letak ruang yang tidak sesuai, yaitu hanya dengan meletakkan daging ayam di atas meja dan disimpan pada suhu ruang serta jaraknya yang masih berdekatan dengan bahan kebutuhan lainnya (Rahadi, 2011). Kondisi pasar dengan segala kegiatan dan lingkungannya memungkinkan adanya potensi kontaminasi silang (*cross contamination*) pada produk-produk makanan, baik yang berasal dari industri rumah tangga maupun industri besar yang menggunakan daging ayam sebagai bahan dasar telah terkontaminasi (Lye dkk., 2013).

METODE PENELITIAN

a. Proses Pengambilan Sampel

Sampel berupa daging ayam mentah dan daging ayam giling dibeli dari 3 pasar tradisional dan 3 pasar modern, yaitu pasar tradisional 1 (PT1), pasar tradisional 2 (PT2), pasar tradisional 3 (PT3), pasar modern 1 (PM1), pasar modern 2 (PM2), dan pasar modern 3 (PM3). Sampel disimpan di dalam *ice box* dan langsung dianalisis di laboratorium.

b. *Most Probable Number* (MPN)

1. *Presumptive test*

Sampel yang berbentuk padat dan besar dicacah serta dihomogenkan menggunakan peralatan-peralatan yang telah disterilisasi. Sebanyak 10 g masing-masing sampel diinokulasikan ke dalam 90 mL *Mac Conkey broth* steril dan dihomogenkan menggunakan vorteks. Lalu 0,5 mL suspensi tersebut diambil dan diinokulasikan ke dalam tabung berisi 4,5 mL *Mac Conkey broth* steril hingga diperoleh suspensi sampel yang telah mengalami pengenceran 100x. Tabung tersebut diambil lagi 0,5 mL suspensi dan dimasukkan ke tabung selanjutnya, begitu seterusnya hingga diperoleh suspensi 10^{-8} pengenceran. Selanjutnya, tabung Durham steril dimasukkan ke dalam masing-masing tabung, dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37ºC (Feng dkk., 2002). Setelah 48 jam, seluruh tabung akan diperiksa hasilnya, dan dicatat untuk dihitung perkiraan jumlah bakteri *Coliform* sesuai dengan tabel MPN seri 3 tabung FDA-BAM (Blodgett, 2010).

2. *Confirmed test*

Suspensi dari tabung yang menunjukkan hasil positif pada *presumptive test* akan diinokulasi ke dalam *Escherichia coli* (EC) *broth* steril. Lalu tabung Durham dimasukkan ke dalam masing-masing tabung, dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37ºC (Feng dkk., 2002). Tabung yang berisi suspensi keruh diinterpretasikan sebagai tabung positif *Escherichia coli*.

3. *Completed test*

Suspensi dari tabung yang menunjukkan hasil positif pada *confirmed test* akan diinokulasi ke media *Eosin Methylen Blue* (EMB) Agar, dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37ºC (Feng dkk., 2002). Isolat tunggal yang berwarna hitam metalik pada permukaan EMB *Agar* tersebut adalah ciri koloni *Escherichia coli*.

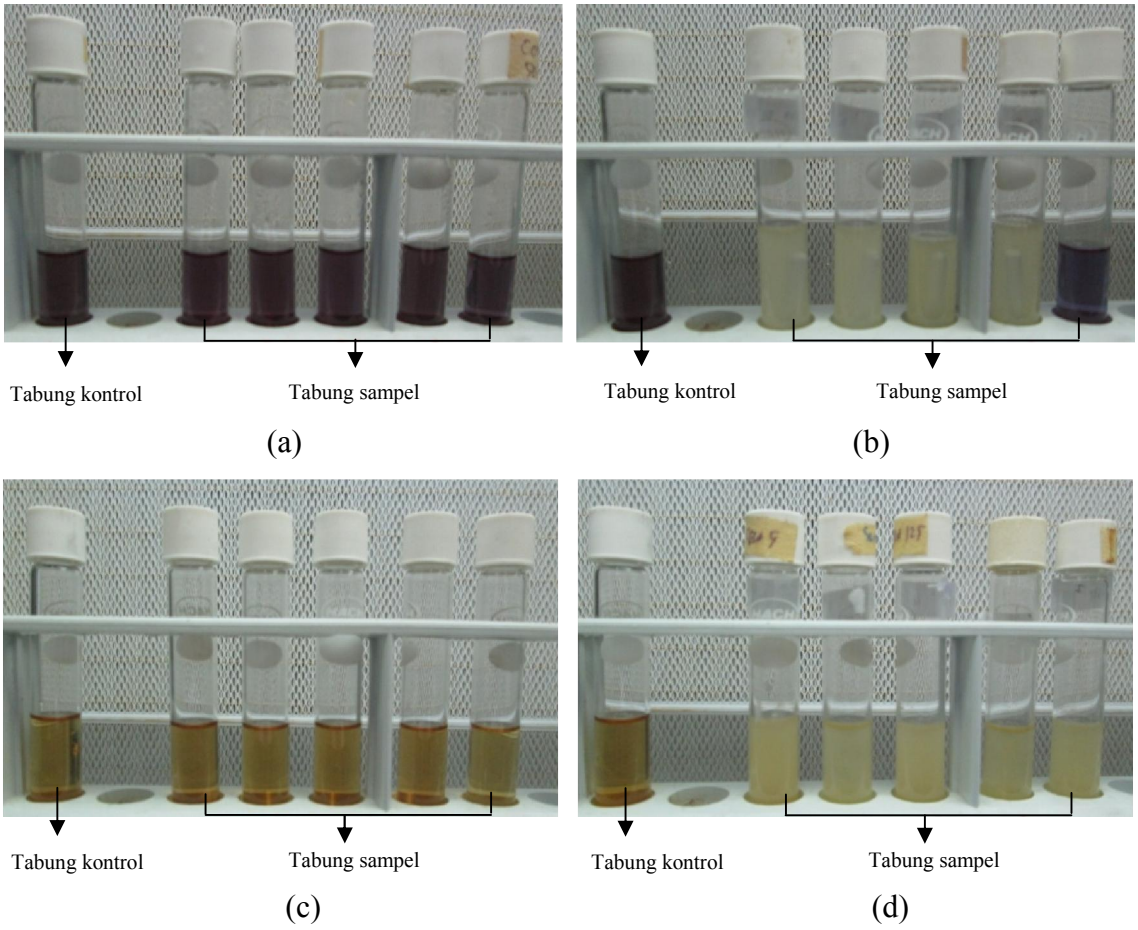
HASIL DAN PEMBAHASAN

Most Probable Number (MPN) merupakan metode analisis untuk memperkirakan banyaknya jumlah kontaminasi bakteri dengan pengenceran bertingkat pangkat 10. Analisis MPN dalam penelitian bertujuan untuk menghitung perkiraan jumlah bakteri *Coliform* dari sampel daging ayam, baik yang berasal dari pasar tradisional maupun pasar modern. *Escherichia coli* dapat dideteksi diantara bakteri *Coliform* dengan melakukan 3 tahap tes MPN *multi-step assay* yang terdiri atas *presumptive test* dan *confirmed test* untuk mendeteksi adanya bakteri *Coliform* serta *completed test* untuk memeriksa adanya *Escherichia coli*.

Lokasi pengambilan sampel dilakukan pada 3 pasar tradisional dan 3 pasar modern. Sampel yang diambil pada pasar tradisional berupa daging ayam mentah dari 2 pedagang ayam berbeda dan dari pasar modern berupa 2 bungkus daging ayam mentah dan 1 bungkus daging ayam giling mentah sehingga ada 15 sampel yang dianalisis.

Presumptive test bertujuan untuk melihat adanya kontaminasi dan menghitung perkiraan jumlah bakteri *Coliform* pada sampel. Tes ini menggunakan media cair *Mac Conkey broth*. *Mac Conkey broth* yang belum diinokulasi sampel bewarna ungu (Gambar 1a), sedangkan *Mac Conkey broth* yang telah diinokulasi sampel dan diinkubasi serta menunjukkan hasil positif menunjukkan perubahan warna

dari ungu menjadi kuning keruh (Gambar 1b). Hasil perhitungan perkiraan jumlah bakteri *Coliform* (Tabel 1) bervariasi, mulai dari $2{,}1x10^4$ MPN/g hingga $>11x10^5$ MPN/g. Jumlah bakteri *Coliform* tertinggi ditunjukkan dari hampir semua sampel yang berasal dari pasar modern, yaitu $>11x10^5$ MPN/g, sedangkan sampel yang berasal dari pasar tradisional menunjukkan jumlah bakteri paling rendah $2{,}1x10^4$ MPN/g dan paling tinggi $4{,}6x10^5$MPN/g. Perkiraan jumlah bakteri *Coliform* dari semua sampel daging ayam melebihi dari batas cemaran maksimum yang telah ditetapkan oleh Badan Standarisasi Nasional (BSN) pada SNI 7388:2009, yaitu $1x10^2$ MPN/g. Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah dilaporkan bahwa kontaminasi bakteri *Coliform* juga terdeteksi pada sayap ayam (Malpas dkk., 2010), produk olahan dari udang (Keeratipibul dkk., 2009) serta susu dan produk olahan dari susu (Mhone dkk., 2011).



Gambar 1. Kondisi dan perubahan pada *Mac Conkey broth* dan EC *broth*, (a) *Mac Conkey broth* sebelum diinokulasi sampel, (b) *Mac Conkey broth* setelah diinokulasi sampel dan diinkubasi, (c) EC *broth* sebelum diinokulasi sampel, dan (d) EC *broth* setelah diinokulasi sampel dan diinkubasi

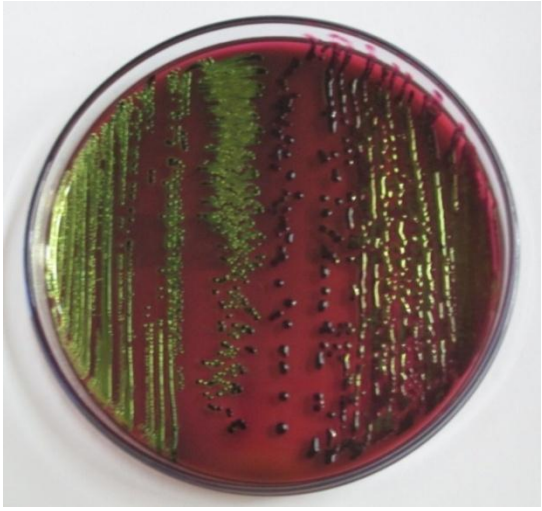
Tabel 1: Hasil perhitungan bakteri *Coliform* pada *Presumptive test*

Sampel	Jenis Sampel	Jumlah Bakteri *Coliform* (MPN/g)
PT1A	Daging ayam mentah	$4{,}6x10^5$
PT1B	Daging ayam mentah	$4{,}6x10^4$
PT2A	Daging ayam mentah	$>11x10^4$
PT2B	Daging ayam mentah	$2{,}1x10^4$
PT3A	Daging ayam mentah	$4{,}6x10^4$
PT3B	Daging ayam mentah	$>11x10^3$
PM1A	Daging ayam giling mentah	$>11x10^5$
PM1B	Daging ayam mentah	$>11x10^5$
PM1C	Daging ayam mentah	$>11x10^5$
PM2A	Daging ayam giling mentah	$>11x10^5$
PM2B	Daging ayam mentah	$11x10^5$
PM2C	Daging ayam mentah	$>11x10^5$
PM3A	Daging ayam giling mentah	$>11x10^5$
PM3B	Daging ayam mentah	$>11x10^5$
PM3C	Daging ayam mentah	$>11x10^5$

Daging ayam yang berasal dari pasar tradisional maupun dari pasar modern bisa terkontaminasi selama proses pemotongan dan dibersihkan. Hasil observasi selama pengambilan sampel di pasar tradisional, kebersihan selama proses penyembelihan, pembersihan bulu, pemotongan ayam saat dijual kurang diperhatikan. Para pedagang ayam di pasar tradisional menggunakan air yang sama di ember untuk mencuci tangan dan ayam yang sudah dipotong diletakkan diatas meja terbuka yang menyebabkan bakteri dapat berkembang dengan cepat (Rahadi, 2011; Sartika dkk., 2005).

Hasil perhitungan MPN jumlah bakteri *Coliform* pada daging ayam di pasar modern lebih tinggi dari pasar tradisional. Daging ayam yang dijual di pasar modern disimpan pada suhu dingin dan dikemas dengan wadah serta ditutup dengan plastik. Pengaruh faktor waktu, yaitu lamanya waktu potong dan disimpan hingga dibeli, yang berselang beberapa lama mempengaruhi jumlah bakteri. Bakteri yang telah mengkontaminasi daging ayam dari pasar modern bisa tumbuh, berkembang dan melakukan pembelahan sel selama daging ayam tersebut disimpan. Sedangkan daging ayam mentah yang berasal dari pasar tradisional, setelah ayam disembelih, dibersihkan dan dipotong, ayam langsung dibeli untuk di analisis.

Pengaruh faktor waktu dapat dihubungkan dengan jumlah bakteri. Interval waktu yang dibutuhkan bagi sel untuk membelah diri disebut sebagai waktu generasi. Sel tunggal bakteri bereproduksi dengan pembelahan biner dan jumlahnya akan bertambah secara geometrik. Apabila kontaminasi bakteri awalnya berada dibawah batas cemaran maksimum mikroba, setelah disimpan beberapa waktu jumlahnya akan meningkat sehingga bisa melewati batas cemaran maksimum.



Gambar 2. Hasil streak sampel yang menunjukkan hasil positif dari *confirmed test* pada EMB *Agar* setelah diinkubasi selama 24 jam

Media *Mac Conkey broth* yang digunakan mengandung laktosa, pepton, *bromocresol purple*, dan garam empedu. Garam empedu dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif sehingga media ini digunakan sebagai media selektif. *Mac Conkey broth* juga disebut sebagai media diferensial karena laktosa yang berperan sebagai sumber karbon utama, menyebabkan hanya bakteri yang mampu memfermentasi laktosa saja yang bisa hidup, seperti bakteri *Coliform*. Fermentasi laktosa akan dihasilkan asam laktat yang menyebabkan penurunan pH dan diikuti perubahan warna oleh indikator *bromocresol purple,* dari warna ungu menjadi kuning dan hasil degradasi lainnya berupa gas akan terperangkap di dalam tabung Durham. Produksi asam dan gas tersebut menunjukkan bahwa pada sampel terdapat *Escherichia coli* yang merupakan salah satu bakteri *Coliform*. Namun, apabila hanya terbentuk asam tetapi gas tidak dihasilkan menandakan bahwa hanya ada bakteri *Coliform* lainnya seperti *Klebsiella, Enterobacter,* dan *Hafnia* (Merck, 1996).

Confirmed test bertujuan untuk memeriksa adanya bakteri *Coliform* dari yang sampel yang dicurigai di *presumptive test*. Deteksi *Escherichia coli* juga dilakukan pada saat yang sama, yaitu dengan memasukkan tabung Durham kedalam tabung. Sampel yang menunjukkan hasil postif pada *presumptive test* dilanjutkan dengan *confirmed test.* EC *broth* yang awalnya berwarna kuning jernih (Gambar 1c) berubah menjadi kuning keruh (Gambar 1d) apabila menunjukkan hasil positif terhadap bakteri *Coliform*.

Media EC *broth* mengandung laktosa, pepton, garam empedu, NaCl, dikalium fosfat, dan monokalium fosfat. Laktosa merupakan sumber karbon utama yang akan difermentasi bakteri menjadi asam sehingga hanya bakteri yang mampu memfermentasi laktosa yang bisa tumbuh. Pepton berperan sebagai sumber asam amino sedangkan garam empedu yang terkandung di media ini akan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Dikalium fosfat dan monokalium fosfat akan mengontrol pH, dan natrium klorida akan menjaga keseimbangan

osmotik media. Media yang berubah dari kuning jernih menjadi kuning keruh dan adanya gas di dalam tabung Durham menunjukkan hasil positif terhadap bakteri *Coliform* terutama *Escherichia coli* (Lal dan Cheepthman, 2007). Hasil positif ini ditunjukkan pada semua sampel yang diinokulasi ke EC *broth*.

Sampel yang menunjukkan hasil positif pada *confirmed test* akan diuji pada *completed test* menggunakan media EMB *Agar* untuk memastikan adanya *Escherichia coli*. EMB *Agar* mengandung laktosa, sukrosa, pepton, *eosin Y*, dan *methylen blue*. EMB *Agar* disebut sebagai media selektif karena kandungan *methylen blue* pada media bisa menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Gula yang terdapat dalam media, yaitu sukrosa dan laktosa merupakan substrat yang bisa difermentasi oleh sebagian besar bakteri Gram negatif, terutama bakteri *Coliform*. Adanya sukrosa dan laktosa juga bertujuan untuk membedakan antara bakteri *Coliform* yang mampu memfermentasi sukrosa lebih cepat daripada laktosa dan yang tidak dapat memfermentasi sukrosa.

Bakteri *Coliform* umumnya mampu memfermentasi laktosa dan menghasilkan asam. Kondisi ini membuat media menjadi asam sehingga indikator *Eosin Y* berubah warna dari bening menjadi ungu gelap yang biasanya disertai kilap logam. Koloni yang tumbuh berinti gelap disertai kilap logam pada permukaan *Eosin Methylen Blu*e (EMB) *Agar* merupakan ciri koloni *Escherichia coli*, seperti yang terlihat pada Gambar 2. Bakteri gram negatif lain yang mampu memfermentasi laktosa dengan lambat akan ditunjukkan dengan warna coklat merah muda, dan bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan terlihat merah muda pudar (Lal dan Cheepthman dkk., 2007; Merck, 1996).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil perhitungan perkiraan jumlah bakteri *Coliform* pada daging ayam mentah dan daging ayam giling mentah pada beberapa pasar tradisional maupun modern di pekanbaru bervariasi, mulai dari $2.1x10^4$ MPN/g hingga $>11x10^5$ MPN/g. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Escherichia coli* ada pada semua sampel, baik yang berasal dari pasar tradisional maupun pasar modern.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Lembaga Penelitian Universitas Riau atas pemberian bantuan biaya penelitian melalui Dana Penelitian Desentralisasi DIKTI, Hibah Bersaing a.n. Yuli Haryani, M.SC, Apt Tahun Anggaran 2012/2013. Terima kasih juga kepada ibu Yuli Haryani, M.Sc, Apt dan Dr. Christine Jose, M.Sc yang telah membimbing, memotivasi serta membantu selama penelitian dan penulisan karya ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

Badan Standarisasi Nasional. 2009. *SNI 7388-2009 Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan*. BSN, Jakarta.

Blodgett, R. 2010. BAM Appendix 2: *Most Probably Number from Serial Dilutions*. U. S. Food and Drug Administration. Tanggal Akses 5 November 2013.

Feng, P., Weagant, S. D., Grant. M. A., Burkhardt. W. 2002. BAM: *Enumeration of Escherichia coli*

and the Coliform Bacteria. U. S. Food and Drug Administration. Tanggal Akses 5 November 2013.

Keeratipibul, S., Techaruwichit, P., Chaturongkasumrit, Y. 2009. Contamination sources of coliforms in two different types of frozen ready-to-eat shrimps. *Food Control* 20: 289–293.

Lal, A., Cheeptham, N. 2007. *Eosin Methylen Blue Agar Protocol*. ML Library American Society for Microbiology.

Lim, D. 1998. *Microbiology*. McGraw-Hill, Boston.

Lye, Y. L., Afsah-Hejri, L., Chang, W. S., Loo, Y. Y., Puspanadan, S., Kuan, C. H., Goh, S. G., Shahril, N., Rukayadi, Y., Khatib, A., John, Y.H.T., Nishibuchi, M., Nakaguchi, Y., Son, R. 2013. Risk of *Escherichia coli* O157:H7 transmission linked to the consumption of raw milk. *International Food Research Journal* 20 (2): 1001-1005.

Malpas, M. C., Williams, A. P., Jones, D. L., Omed, H. M. 2010. Microbiological quality of chicken wings damaged on the farm or in the processing plant. *Food Microbiology* 27: 521-525.

Merck. 1996. *Microbiology Manual*. Merck KGaA, Darmstadt.

Mhone, T. A., Matope, G., Saidi, P. T. 2011. Aerobic bacterial, coliform, Escherichia coli and Staphylococcus aureus counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. *International Journal of Food Microbiology* 151: 223-228.

Rahadi, U. S. E. 2011. *Isolasi Escherichia coli dari Daging Sapi yang Dijual di Pasar Tradisional Surabaya Selatan.* Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Sartika, R. A. D., Indrawani, Y. M., Sudiarti, T. 2005. Analisis Mikrobiologi *Escherichia Coli* O157:H7 Pada Hasil Olahan Hewan Sapi Dalam Proses Produksinya. *Makara Kesehatan* 9: 23-28.

U.S. Department of Health and Human Service. 2005. *Health Consultation: Walden's Ridge Utility District Signal Mountain, Hamilton County, Tennessee.* Tennessee Department of Health Under a Cooperative Agreement with The Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Georgia.

Yuliastuti, D. 2011. 30 Penyakit Ini Akibat Krisis Air Bersih. Tempo. *http://www.tempo.co/read/news/2011/09/07/060354927/30-Penyakit-Ini--Akibat-Krisis-Air-Bersih*. Tanggal Akses 5 November 2013.