

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 MAKANAN PENDAMPING ASI**

Makanan Pendamping Air Susu Ibu (MP-ASI) adalah makanan peralihan dari ASI ke makanan atau minuman yang terkandung zat gizi atau nutrisi dan diberikan pada bayi atau anak berusia 6 hingga 24 bulan untuk memenuhi kebutuhan gizi selain dari ASI. Kualitas dan kuantitas MP-ASI yang cukup penting untuk pertumbuhan fisik dan perkembangan kecerdasan anak yang sangat pesat selama periode tersebut. Selama empat hingga enam bulan pertama, ASI masih mampu memenuhi kebutuhan nutrisi bayi. Setelah enam bulan, produksi ASI menurun, sehingga ASI tidak lagi cukup untuk memenuhi kebutuhan gizi bayi. Sedangkan untuk memenuhi kebutuhan gizi bayi, maka diperlukan makanan tambahan (Sani et al., 2023).

Makanan tambahan (MP-ASI) atau juga dapat sebagai pengganti ASI sangat membantu bayi dalam proses belajar makan dan menanamkan kebiasaan makan yang baik. Hal ini dilakukan karena ASI tidak dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bayi secara terus menerus, jadi makanan tambahan diberikan untuk mengisi kesenjangan antara ASI dan kebutuhan nutrisi total bayi, akan tetapi dengan total nutrisi seperti ASI (Sari et al., 2022).

Sejak bayi berusia enam bulan, makanan pendamping ASI (MP-ASI) diberikan kepada bayi karena kebutuhan bayi akan nutrisi tertentu untuk pertumbuhan dan perkembangan tidak dapat dipenuhi hanya dengan ASI. MP-ASI harus bergizi padat dan tidak mengandung serat kasar atau bahan lain yang sukar dicerna seminimal mungkin, karena serat yang terlalu banyak akan mengganggu proses pencernaan dan penyerapan zat gizi. Selain itu, MP-ASI tidak boleh mengandung lemak atau bahan lain yang tidak dapat dicerna jarang sekali MP-ASI dibuat hanya dari satu jenis bahan pangan, tetapi lebih sering merupakan campuran beberapa bahan pangan dengan perbandingan tertentu untuk menghasilkan produk dengan nilai gizi tinggi. Pencampuran bahan pangan harus didasarkan pada gagasan komplementasi protein, yang berarti bahwa masing-masing bahan akan menutupi kekurangan masing-masing protein. Selain itu, untuk meningkatkan kebutuhan

energi, diperlukan vitamin, mineral, dan energi dari minyak dan gula (Demsa Simbolon, 2019).

## 2.2 JENIS-JENIS MPASI

Menurut SNI 7388:2009 Tentang Batas Maksimum Cemarkan Mikroba Dalam Pangan jenis-jenis makanan komplemen untuk bayi dan anak kecil adalah sebagai berikut :

### 1. MP-ASI biskuit

MP-ASI yang diproduksi melalui proses pemanggangan yang dapat dikonsumsi setelah dilumatkan dengan penambahan air, susu, atau cairan lain yang sesuai untuk bayi diatas 6 bulan atau berdasarkan indikasi medik atau dapat dikonsumsi langsung sesuai umur dan organ pencernaan bayi/anak (Indonesia & Nasional, 2005).

Jenis cemarkan mikroba yang diperbolehkan dan tidak diperbolehkan pada MPASI biskuit, menurut SNI 7388-:2009 tentang Batas Maksimum Cemarkan Mikroba Dalam Pangan antara lain :

**Tabel 2.1 Batas Maksimum Cemarkan Mikroba Pada MP-ASI Biskuit**

<b>Jenis cemarkan mikroba</b>	<b>Batas maksimum</b>
ALT (30 C 72 jam)	1 x 10 <sup>4</sup> koloni
APM koliform	< 20/g
APM <i>Escherichia coli</i>	Negatif/g
<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>2</sup> koloni/g

### 2. MP-ASI siap santap

MP-ASI yang telah diolah melalui proses sterilisasi komersial sehingga dapat dikonsumsi langsung. MP-ASI siap masak dibuat dari salah satu atau campuran bahan-bahan berikut dan atau turunannya, semisalnya serelia (beras, jagung, gandum, sorgum, barley, oats, rye, millet, buckwheat), umbi-umbian (ubi jalar, ubi, kayu, garut, kentang, gembili), bahan berpati (sagu, pati, aren), kacang-kacangan (kacang hijau, kacang merah, kacang tunggak, kacang dara), biji-bijian yang mengandung minyak (kedelai, kacang tanah, wijen), susu, ikan, daging, unggas, dan atau bahan makanan lain yang sesuai (Nasion, 2005).

Jenis cemaran mikroba yang diperbolehkan dan tidak diperbolehkan pada MPASI siap santap, menurut SNI 7388-:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan antara lain :

**Tabel 2.2 Batas Maksimum Cemaran Mikroba Pada MP-ASI Siap Santap**

<b>Jenis cemaran mikroba</b>	<b>Batas maksimum</b>
ALT (30°C, 72 jam)	1 x 10 <sup>2</sup> koloni
APM koliform	<3/g
APM <i>Escherichia coli</i>	Negatif/g
<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	Negatif/g

### 3. MP-ASI siap masak

MP-ASI yang telah diproses dan harus dimasak dengan air atau cairan lain yang sesuai sebelum dikonsumsi. MP-ASI siap masak dibuat dari salah satu atau campuran bahan-bahan berikut dan atau turunannya, semisal nya serelia (beras, jagung, gandum, sorgum, barley, oats, rye, millet, buckwheat), umbi-umbian (ubi jalar, ubi, kayu, garut, kentang, gembili), bahan berpati (sagu, pati, aren), kacang-kacangan (kacang hijau, kacang merah, kacang tunggak, kacang dara), biji-bijian yang mengandung minyak (kedelai, kacang tanah, wijen), susu, ikan, daging, unggas, dan atau bahan makanan lain yang sesuai. Selain bahan utama seperti yang disebutkan dapat ditambahkan bahan lain atau turunannya yang sesuai untuk bayi dan anak berusia 6 bulan sampai 24 bulan seperti minyak, lemak, gula, madu, sirup gula, garam, sayuran, buah dan rempah (Nasion & Standard, 2005).

### 4. MP-ASI bubuk instan

MP-ASI yang telah diolah sehingga dapat disajikan seketika dengan hanya penambahan air minum atau cairan lain yang sesuai (SNI, 2005). Jenis cemaran mikroba yang diperbolehkan dan tidak diperbolehkan pada MPASI bubuk instan, menurut SNI 7388-:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan antara lain :

**Tabel 2.3 Batas Maksimum Cemaran Mikroba Pada MP-ASI Bubuk Instan**

<b>Jenis cemaran mikroba</b>	<b>Batas maksimum</b>
ALT (30°C, 72 jam)	1 x 10 <sup>4</sup> koloni
APM koliform	< 20/g
APM <i>Escherichia coli</i>	Negatif/g
<i>Salmonella sp.</i>	Negatif/25 g
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>2</sup> koloni/g

## 2.2 HIGIENITAS

Higiene adalah upaya kesehatan dengan mempertahankan dan melindungi kebersihan individu, seperti menjaga kebersihan peralatan dan membuang bagian makanan yang rusak untuk menjaga keutuhan makanan secara keseluruhan. Higiene adalah usaha untuk mencegah penyakit dengan fokus pada menjaga lingkungan hidup manusia sehat. Sanitasi, di sisi lain, berarti menciptakan atau menjaga lingkungan yang dapat mencegah kontaminasi makanan atau penyakit yang disebabkan oleh makanan. Sanitasi adalah upaya nyata untuk menjamin kondisi higienis (Widyastuti, Nurmasari & Almira, 2019).

Sanitasi makanan adalah salah satu usaha pencegahan yang menitikberatkan kegiatan dan tindakan yang perlu untuk membebaskan makanan dan minuman dari segala bahaya yang dapat mengganggu atau merusak kesehatan, mulai dari sebelum produksi, selama dalam proses pengolahan, penyimpanan, pengangkutan, sampai makanan dan minuman (Widyastuti, Nurmasari & Almira, 2019).

Sebelum bahan makanan diolah, harusnya dipilih terlebih dahulu. Dalam memilih bahan makanan untuk diolah, penjamah makanan harus mengetahui sumber bahan makanan yang baik untuk menghindari keracunan, memudahkan pengendalian, dan mempertahankan kualitasnya. Hasil olahan makanan yang disajikan sangat dipengaruhi oleh kualitas bahan makanan. Ciri-ciri fisik dan kualitas bahan makanan, seperti bentuk, warna, kesegaran, dan bau, dapat digunakan untuk menentukan kualitas bahan makanan yang baik. Makanan dikatakan berkualitas tinggi jika tidak terkontaminasi atau tercemar, termasuk pencemaran oleh bahan kimia seperti pestisida. Hasil olahan yang baik dan sehat akan dibuat dengan bahan makanan yang baik (Avicena Sakula Marsanti, S., Widiarini, R., & KM, 2018).

Makanan yang digunakan dalam proses produksi harus disimpan dengan benar karena kesalahan dalam penyimpanan dapat mengurangi kualitas dan keamanan makanan. Tujuan penyimpanan bahan makanan adalah untuk mencegah bahan makanan rusak dan kehilangan nilai gizinya. Pada dasarnya, kerusakan bahan makanan dapat disebabkan oleh enzim. Pengolahan makanan adalah proses mengubah makanan mentah menjadi makanan yang dapat dimakan. Untuk menjamin keamanan dan kualitas produk makanan yang dihasilkan, prinsip pengolahan makanan yang baik adalah prinsip umum yang perlu diperhatikan saat memproduksi makanan. Pengolahan makanan yang baik harus memenuhi persyaratan Cara Produksi Makanan yang Baik (CPMB) atau Praktik Produksi Makanan yang Baik (GMP) (Avicena Sakula Marsanti, S., Widiarini, R., & KM, 2018).

### **2.3 BAKTERI PADA MAKANAN**

Apabila makanan terkontaminasi dengan keadaan suhu dan waktu yang cukup, serta kondisi yang memungkinkan pertumbuhan mikroorganisme atau kuman penyakit, makanan tersebut akan menjadi media yang menguntungkan bagi kuman untuk berkembang biak, sehingga akan berbahaya bagi kesehatan, jika mengkonsumsi makanan tersebut. Penyakit yang berkaitan dengan kebersihan makanan atau minuman biasanya disebut sebagai penyakit yang disebabkan oleh air dan makanan. Bakteri yang ada pada makanan atau minuman ini biasanya menyebabkan penyakit infeksi (Indraswati, 2016).

Mikroorganisme yang tumbuh dalam makanan dapat mengubah makanan tersebut menjadi zat-zat organik yang berkurang energinya. Didalam pengubahan tersebut bakteri memperoleh energi yang dibutuhkannya. Namun, ada beberapa spesies, dimana hasil metabolismenya berupa eksotoksin yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Jika toksin tersebut masuk kedalam alat pencernaan manusia akan menimbulkan gejala keracunan seperti sakit perut, muntah-muntah, dan diare. Mikroorganisme tidak hanya ada pada makanan mentah atau yang sudah dimasak dalam makanan yang dapat merugikan tubuh, berikut mikroorganisme sebagai peracun pada makanan diantaranya, *Staphylococcus sp. bacillus cereus*, *Colustridium botulinum*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Escherichia coli*, *Camphylobacter*, dan *Salmonella* (Indraswati, 2016).

## **2.4 COLIFORM**

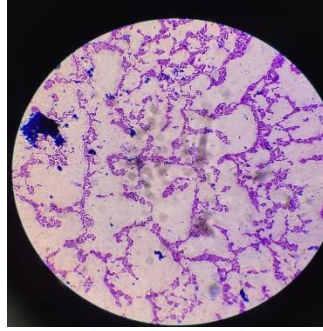
Bakteri *coliform* berbentuk batang, gram negatif, oksidasi-negatif, bersifat aerob atau anaerob secara pilihan, tidak membentuk spora, dan memiliki kemampuan untuk memfermentasikan laktosa menjadi gas dan asam dalam waktu 48 jam pada suhu 37° C. Keberadaan bakteri *coliform* dalam air atau makanan menunjukkan bahwa air atau makanan tercemar. Bakteri ini dapat menyebar dari tangan ke mulut atau secara pasif melalui air, makanan, susu, atau produk lainnya (Hidayah et al., 2022).

Yang termasuk golongan *coliform* adalah *Escherichia coli* dan spesies dari *Citro bacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* *Escherichia coli* dan *Serratia*. Untuk menghindari berbagai penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Coliform*, diperlukan upaya pencegahan seperti menjaga kebersihan, sumber air yang bersih, dan sanitasi yang baik, dikarenakan bakteri *Coliform* dapat menyebabkan penyakit saluran pencernaan, salah satunya diare (Hidayah et al., 2022).

## **2.5 BAKTERI *Escherichia Coli***

*Escherichia coli* merupakan bakteri berbentuk batang pendek (kokobasil), Gram negatif, ukuran 0,4 µm – 0,7 µm x 1,4 µm, dan beberapa strain mempunyai kapsul. Terdapat strain *E. coli* yang patogen dan non patogen. *Escherichia coli* non patogen banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal dan berperan dalam pencernaan pangan dengan menghasilkan vitamin K dari bahan yang belum dicerna dalam usus besar (BPOM, 2012).

*Escherichia coli* adalah salah satu bakteri dalam golongan Coliform yang biasanya ditemukan di dalam usus besar dan kotoran manusia dan hewan. Ini adalah bakteri gram negatif yang berbentuk batang dan tidak membentuk spora. *Escherichia coli* juga bersifat oportunistik, atau menyebabkan infeksi pada organisme yang memiliki sistem kekebalan yang normal tetapi dapat menyerang kekebalan tubuh yang buruk (Devina Agrippina Balai Riset dan Standardisasi Industri Bandar Lampung et al., 2019). Adapun klasifikasi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut :



(Sumber: Laporan Praktikum)

### **Gambar 2. 1 Bakteri Escherichia coli**

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proterobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

Bakteri indikator sanitasi dikenal dalam bidang mikrobiologi pangan yaitu bakteri yang keberadaannya dalam pangan menunjukkan bahwa pangan tersebut pernah tercemar oleh kotoran manusia dan atau hewan. Hingga saat ini jenis bakteri yang dapat digunakan untuk menunjukkan adanya masalah sanitasi yaitu *Escherichia coli* (Kusumawardani & Rosyidah, 2020).

*Escherichia coli* mudah tumbuh pada media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen dan pada suhu ideal 37°C. Untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air, *Escherichia coli* memfermentasikan laktosa dan menghasilkan indol. *Escherichia coli* berbentuk konveks dan sirkular, dan koloninya tidak berpigmen pada nutrient atau media darah. *Escherichia coli* dapat berkembang biak dengan baik pada suhu 8–46 °C dan optimal pada suhu 37 °C. Selama lima belas menit, bakteri *Escherichia coli* dapat bertahan pada suhu 60 °C dan pada suhu 55°C dapat bertahan selama 60 menit. Jika bakteri berada dalam keadaan tidur atau dormansi, bakteri tidak akan segera mati jika disimpan di bawah temperatur minimum atau sedikit di atas temperatur maksimum (Kusumawardani & Rosyidah, 2020). Pada umumnya, bakteri *Escherichia coli* hanya mengenal satu jenis pembiakan, yaitu dengan cara seksual

atau vegetatif. Pemiakan ini berlangsung cepat jika faktor luar menguntungkan bagi dirinya. Setelah pembelahan, sel-sel baru akan membesar sampai masing-masing menjadi sebesar sel induknya.

Dalam persyaratan mikrobiologi *Escherichia coli* dipilih sebagai indikator tercemarnya air atau makanan karena keberadaan bakteri *Escherichia coli* dalam sumber air atau makanan merupakan indikasi terjadinya kontaminasi tinja manusia. Adanya *Escherichia coli* menunjukkan suatu tanda praktek sanitasi yang tidak baik karena *Escherichia coli* bisa berpindah dengan kegiatan tangan ke mulut atau dengan pemindahan pasif lewat makanan, air, susu dan produk-produk lainnya yang tercemar oleh feses. Bakteri ini juga dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui tangan atau alat-alat dan peralatan makan yang tercemar oleh tinja. Penularan biasanya terjadi apabila kontak pekerja yang membuat makanan sehingga menyebabkan penularan penyakit melalui makanan atau Foodbone disease. Dapat juga tertular apabila seseorang menggaruk daerah anus lalu tidak mencuci tangan dan kemudian memegang apapun yang ada di dekatnya. Kemudian benda atau makanan yang telah terinfeksi di ambil oleh orang lain (Rahayu et al., 2018).

Bakteri tidak hanya dipengaruhi oleh faktor-faktor luar, tetapi juga memiliki kemampuan untuk mengubah lingkungan sekitarnya. Misalnya, terinfeksi bakteri *Escherichia coli* dalam saluran pencernaan dapat menyebabkan demam, yang dikenal sebagai panas, dan menyebabkan diare yang berkepanjangan. Dalam medium yang mengandung sumber karbon seperti glukosa dan laktosa, *Escherichia coli* akan mengubah pH medium menjadi asam dan menghasilkan gas sebagai akibat dari terurainya glukosa menjadi senyawa lain (Kusumawardani & Rosyidah, 2020).

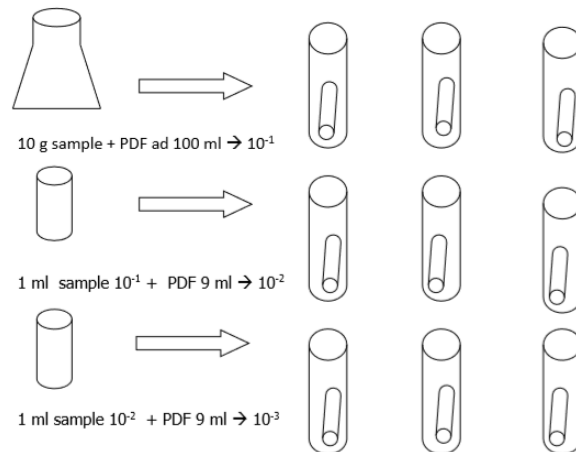
## **2.6 METODE MPN (MOST PROBABLE NUMBER)**

Metode MPN (Most Probable Number) terdiri dari uji pendugaan (Presumptive Test), uji penegas (Confirmed Test), dan uji pelengkap (Complete Test). Metode ini dapat digunakan untuk menghitung mikroba dengan menghitung jumlah bakteri dalam sampel (Adams, 2012). Prinsip dari metode MPN adalah pengenceran sampel hingga tingkat tertentu sehingga diperoleh konsentrasi mikroorganisme yang sesuai. Adanya bakteri ditandai dengan adanya gas didalam tabung durham yang menghasilkan frekuensi pertumbuhan tabung positif. Semakin



besar sampel yang dimasukkan maka akan semakin sering tabung positif yang muncul. Sedangkan semakin kecil sampel yang dimasukkan maka akan semakin jarang tabung positif yang muncul (Adams, 2012).

Metode MPN (Most Probable Number) menggunakan medium cair yang diletakkan di dalam tabung reaksi, dengan menghitung jumlah tabung yang positif. Timbulnya kekeruhan atau pembentukan gas di dalam tabung durham untuk bakteri pembentuk gas adalah cara untuk melihat pengamatan tabung positif. Untuk setiap pengenceran biasanya digunakan tiga atau lima seri tabung. Menghitung nilai MPN dengan menggunakan lebih banyak tabung akan menunjukkan tingkat ketelitian yang lebih tinggi. Metode MPN biasanya digunakan untuk menghitung jumlah bakteri dalam sampel cair, tetapi juga dapat digunakan untuk sampel pada sampel padat dengan cara disuspensikan terlebih dahulu di dalam buffer dengan perbandingan 1 : 9. Kelompok bakteri yang dapat dihitung dengan metode MPN juga berbeda-beda tergantung pada media yang digunakan untuk pertumbuhannya (Yusmaniar, Wardiyah, 2017).



(Sumber: Yusmaniar, Wardiyah, 2017)

**Gambar 2.2 Skema Metode MPN Menggunakan Pengenceran Bertingkat 3 Tabung**

Asumsi yang diterapkan dalam metode MPN adalah bakteri terdistribusi secara merata dalam sampel, sel bakteri terpisah, tidak dalam bentuk rantai atau kelompok (bakteri koliform termasuk *Escherichia coli*), terpisah dari setiap sel dan tidak membentuk rantai, media yang dipilih cocok untuk pertumbuhan bakteri

target pada suhu dan waktu inkubasi tertentu, sehingga minimal satu sel hidup dapat menghasilkan tabung positif selama inkubasi, jumlah yang diperoleh hanya mewakili bakteri hidup. Sel yang terluka dan tidak dapat menghasilkan tabung positif dan tidak akan terdeteksi. Metode MPN lebih cocok untuk diterapkan pada sampel yang memiliki konsentrasi <100/g atau ml. Oleh karena itu nilai MPN dari sampel yang memiliki populasi mikroorganisme yang tinggi umumnya tidak begitu menggambarkan jumlah mikroorganisme yang sebenarnya. Jika jumlah kombinasi tabung positif tidak sesuai dengan tabel maka sampel harus diuji ulang. Semakin banyak seri tabung maka semakin tinggi akurasi tetapi juga akan mempertinggi biaya analisa (Avifah, 2021).

Tabung positif			APM/g	Tk. Kepercayaan		Tabung positif			APM/g	Tk. Kepercayaan	
0.1	0.01	0.001		Bawah	Atas	0.1	0.01	0.001		Bawah	Atas
0	0	0	<3.0	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	

SUMBER Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual, Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions, October 2010

(Sumber: SNI, 2015)

**Gambar 2.3 Indeks APM Dengan Tingkat Kepercayaan 95% Untuk Berbagai Kombinasi Hasil Positif dari 3 seri tabung pada pengenceran  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$**

### 2.6.1 Uji Penduga

Uji pendugaan menggunakan media Lactose Broth yang memiliki fungsi untuk mendeteksi sifat fermentatif *Coliform* berdasarkan terbentuknya asam dan gelembung yang disebabkan adanya fermentasi laktosa dari bakteri golongan *Coliform*. Media yang berisi bahan tambahan tertentu yang dapat memperbanyak kehadiran mikroba yang diinginkan dengan menghambat pertumbuhan mikroba

yang tidak diinginkan dinamakan media selektif. Media Lactose Broth mengandung laktosa dan hanya bakteri yang mampu memfermentasikan laktosa yang dapat tumbuh ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung durham seperti bakteri *Coliform* (Utami & Miranti, 2020).

Uji pendugaan bertujuan untuk mengetahui adanya dugaan bakteri *Coliform*. Media LB merupakan media cair yang mengandung laktosa yang dapat diuraikan oleh bakteri *Coliform*, ditandai dengan adanya gelembung gas pada tabung durham yang diletakkan terbalik pada tabung reaksi. Namun, uji pendugaan ini belum dapat digunakan sebagai acuan pasti adanya bakteri *Coliform* karena media LB bukan merupakan media selektif untuk pertumbuhan *Coliform* saja tetapi juga bisa sebagai media pengkayaan bakteri golongan *Enterobacteriaceae* (Supomo et al., 2016).



(Sumber: Utami & Miranti, 2020)

**Gambar 2.4 Hasil Positif Uji Penduga Pada Media LB**

### **2.6.2 Uji Konfirmasi**

Dalam uji penegasan menggunakan media Brilliant Green Lactose Broth (BGLB) yang memiliki fungsi menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan meningkatkan pertumbuhan bakteri *Coliform*. Media selektif diferensial digunakan untuk mendeteksi kebenaran adanya bakteri *Coliform* (Utami & Miranti, 2020).

Uji penegasan bertujuan untuk menguatkan dugaan adanya bakteri *Coliform*. Uji penegasan dengan menggunakan media BGLB ini berfungsi untuk menyeleksi pertumbuhan bakteri *Coliform* terhadap bakteri lain dengan menggunakan media selektif. Media BGLB merupakan media cair yang

mengandung laktosa empedu berwarna hijau dan hanya bakteri *Coliform* yang dapat memfermentasikan laktosa dan dapat bertahan hidup pada media ini.

Laktosa pada media BGLB hanya dapat difermentasikan oleh bakteri *Coliform* menjadi asam suksinat dan asam fumarat diikuti pembentukan  $O_2$  oleh bakteri *Coliform* fakultatif anaerob dan  $CO_2$  oleh bakteri *Coliform* aerob. Pembentukan gas  $O_2$  dan  $CO_2$  dapat dijadikan parameter ada tidaknya bakteri *Coliform* dalam sampel (Supomo et al., 2016).



(Sumber: Utami & Miranti, 2020)

**Gambar 2.5 Hasil Positif Uji Konfirmasi Pada Media BGLB**

### **2.6.3 Uji Pelengkap**

Uji pelengkap dilakukan untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh adalah bakteri *E. coli*. Media Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar) merupakan media selektif yang dapat menumbuhkan bakteri *Escherichia coli*. Media EMB Agar mengandung laktosa, apabila dalam biakan terdapat bakteri anggota *Escherichia coli* maka asam yang dihasilkan dari fermentasi laktosa akan menghasilkan koloni yang spesifik. Koloni bakteri *Escherichia coli* berwarna hijau dengan kilap metalik (Wardhana et al., 2021).

Adanya eosin dan metilen blue membantu mempertajam perbedaan warna koloni yang dapat memfermentasikan laktosa. Koloni yang dapat memfermentasikan laktosa akan berwarna gelap dengan kilap metalik, sedangkan mikroba yang tidak dapat tumbuh koloninya tidak berwarna (Fatmalia & Crystin, 2017).



*(Sumber: Wardhana, 2021)*

**Gambar 2.6 Hasil Positif Uji Pelengkap Pada Media EMB Agar**