

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tinjauan Teori

#### 1. Es Tebu

Tebu masuk ke dalam famili *poceae* yang biasa dikenal dengan kelompok rumput-rumputan. Tebu dapat tumbuh di dataran rendah tropis, namun bisa juga tumbuh di beberapa daerah subtropis. Manfaat tebu yang paling utama yaitu digunakan sebagai bahan baku gula pasir. Ampas tebu atau yang dinamakan dengan bagasse merupakan hasil samping dari proses ekstraksi air tebu yang diperoleh dari batang tanaman tebu. (Tabitha, dkk, 2021).

Es tebu adalah salah satu produk minuman dari batang tanaman tebu. Es tebu lumayan disukai oleh seluruh kalangan mulai dari anak-anak sampai orang dewasa. Karena, es tebu memiliki rasa manis serta menyegarkan. Para penjual es tebu biasanya berjualan dipinggir jalan dengan menggunakan gerobak yang dilengkapi mesin pemeras khusus sari tebu. Penyajian sari tebu biasanya menggunakan plastik es atau gelas plastik. (Fauzi, dkk, 2017)



Sumber: dokumentasi pribadi, 2024

Gambar 2.1 Es Tebu

Sari tebu segar memiliki beberapa kelemahan pada proses produksinya. Salah satu kelemahannya adalah masa simpan yang sangat singkat. Masa simpan yang singkat disebabkan karena fermentasi oleh mikroba sehingga sari tebu segar menjadi asam. Masa simpan air tebu pada suhu ruang adalah kurang dari 8 jam, pada suhu 10°C adalah kurang dari 4 hari, dan pada suhu 5°C kurang dari 10 hari. (Rizki, 2015)

## 2. Bakteri *Coliform*

*Coliform* adalah kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator kontaminasi tinja dan sanitasi yang buruk pada air, makanan, susu, dan produk susu. Kehadiran bakteri *Coliform* pada makanan atau minuman menunjukkan potensi mikroorganisme enteropatogenik dan/atau toksik yang mengancam kesehatan. (Irianto Koes, 2013)

Kelompok bakteri *Coliform* diantaranya yaitu *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Citrobacter*. Alasan utama pengelompokan adalah karena mempunyai banyak kesamaan ciri. Semuanya merupakan bakteri Gram-negatif berbentuk batang (basil) yang tidak memiliki spora, banyak yang motil. Memiliki sifat anaerob fakultatif yang resisten terhadap banyak agen aktif-permukaan dan memfermentasi laktosa untuk memproduksi asam dan gas pada suhu 32°C atau 35°C dalam waktu 48 jam. Beberapa spesies mampu tumbuh di suhu yang lebih tinggi (44,5°C), sedangkan spesies lain mampu tumbuh di suhu 4°C-5°C. (Ray & Bhunia, 2020)

Mikroorganisme ini ditemukan pada kotoran manusia, hewan berdarah panas, dan unggas. Beberapa ditemukan di lingkungan dan makanan yang terkontaminasi. Beberapa *Klebsiella* spp. dan *Enterobacter* spp. ditemukan di tanah tempat ia berkembang biak dan mencapai populasi besar. Beberapa ditemukan di tanaman dan air. (Ray & Bhunia, 2020)

Bakteri *Coliform* adalah flora normal pada usus manusia dan bisa menyebabkan penyakit jika masuk ke jaringan atau organ lain. Bakteri tersebut mudah menyebar yaitu dengan mengontaminasi bahan yang

menyentuhnya dan mencemari air. Jika suatu makanan ditemukan terkontaminasi oleh bakteri tersebut, maka sebuah pertanda bahwasanya makanan tersebut sempat tercemar kotoran manusia. (Falamy, dkk, 2012).

Bakteri *Coliform* dibedakan menjadi 2, yaitu:

- a. *Coliform* fekal adalah bakteri yang berasal dari kotoran hewan maupun manusia. Salah satu contohnya yaitu *Escherichia coli*.
- b. *Coliform* non fekal adalah bakteri yang ditemukan di hewan dan tanaman mati. Salah satu contohnya yaitu *Enterobacter aerogenes*. (Tapotubun, dkk, 2016)

Kelompok bakteri *Coliform* diantaranya:

a. *Escherichia coli*

Pada awal ditemukannya tahun 1885 oleh Theodor Escheric, *Escherichia coli* telah dipertimbangkan sebagai bakteri yang tidak berbahaya. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang lurus (basil) dengan ukuran 1x3 mm. motil atau non motil, anaerobik fakultatif. Bakteri ini bisa dijumpai di dalam usus manusia, hewan berdarah panas, dan burung. Banyak strainnya yang memiliki sifat nonpatogenik, namun ada beberapa strain yang memiliki sifat patogenik pada manusia dan hewan dan dapat menjadi penyebab penyakit bawaan makanan. Karena jumlahnya sangat tinggi pada kondisi normal (jumlah per gram isi usus besar), organisme ini telah lama digunakan untuk mendeteksi kemungkinan kontaminasi tinja oleh organisme dan keberadaan patogen enterik dalam air dan makanan. (Ray & Bhunia, 2020)

Secara biokimia, kelompok tersebut dibedakan dari *Coliform* lain melalui produksi indol dari tripton, reduksi methyl red akibat produksi asam (pewarnaan merah), reaksi Voges-Proskauer (produksi acetyl-methyl carbinol dari glikosa), dan penggunaan sitrat sebagai pola reaksi sumber-C (IMViC). (Ray & Bhunia, 2020)

Bukti yang terkumpul sejak pertengahan tahun 1940-an menunjukkan bahwa strain *Escherichia coli* sering kali menjadi penyebab diare, terutama pada bayi, dan diberi nama EPEC. Namun, bukti terbaru menunjukkan bahwa terdapat lebih dari satu strain *Escherichia coli* yang patogen. Organisme ini dikelompokkan menjadi enam kelompok berdasarkan kemampuannya menghasilkan racun dan menempel serta menyerang sel epitel. (Ray & Bhunia, 2020)

Keenam subkelompok tersebut, antara lain:

1) *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Strain ini menjadi faktor utama dibalik kasus diare di kalangan wisatawan dan bayi di negara-negara berkembang dengan sanitasi yang buruk. Adanya penyakit ini disebabkan oleh kemampuan patogen untuk berkoloni dengan cara menempel pada sel epitel menggunakan pili atau antigen faktor kolonisasi (*colonization factor antigen*, CFA) dan menghasilkan racun peka panas (tidak stabil, heat-labile, LT) dan tahan panas (*heat-stable*, HT) atau keduanya (LT dan ST). Toksin LT berikatan dengan reseptor gangliosida GM1 pada enterosit dan tidak menyebabkan perubahan histologis pada lapisan mukosa, sehingga tidak ada atau minimal peradangan yang terlihat di usus. Toksin tersebut menginduksi kadar cAMP intraseluler, yang pada gilirannya mengaktifkan jalur klorida reseptor transmembran fibrosis kistik (CFTR), menyebabkan peningkatan permeabilitas membran, ketidakseimbangan elektrolit ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) dan kehilangan cairan yang tinggi (diare encer). (Ray & Bhunia, 2020)

Gejalanya meliputi gastroenteritis, seperti kolera ringan. Gejala-gejala ini berakibat fatal bagi anak-anak karena mereka kehilangan terlalu banyak cairan dan mengalami dehidrasi. Selain itu, tanda dan gejala lainnya antara lain sakit kepala,

demam, mual, dan muntah. Patogen menyebar secara langsung atau tidak langsung melalui manusia. (Ray & Bhunia, 2020)

## 2) *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

Strain ini menyebabkan kasus diare pada anak-anak di seluruh dunia, terutama di daerah dengan sanitasi yang buruk. EPEC atipikal (aEPEC) lebih umum terjadi dibandingkan EPEC tipikal (tEPEC) baik di Negara maju maupun berkembang. Organisme ini ditularkan secara langsung atau tidak langsung melalui perantara manusia. Patogen ini tidak menghasilkan racun, tetapi melekat erat pada sel epitel menggunakan kumpulan pili (*bundle-forming pili*, bfp) dan faktor virulensi yang disebut faktor pelekat-pelepas atau intimin. Gen pelekat-pelepas (*eaeA*) dari *Escherichia coli* mengkodekan intimin yang bertanggung jawab atas perlekatan erat, yang menyebabkan kerusakan parah pada lapisan epitel yang disebut lesi perlekatan-pelepasan, yang dapat menghancurkan vili obserptif dan menyebabkan malabsorpsi dan diare. Gen *eaeA* terletak di pulau patogenisitas LEE (*locus of enterocyte effacement*). Untuk menimbulkan gejala seseorang perlu menelan sel sebanyak  $10^8$ - $10^9$ , dan gejala biasanya muncul dalam 3 jam. Gejala utamanya adalah gastroenteritis, diare cair, muntah-muntah, dan demam ringan. (Ray & Bhunia, 2020)

## 3) *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

Strain ini menyebabkan disentri, mirip dengan shigellosis. Pertama organisme menempel pada sel epitel dan menyerang serta bergerak dari sel ke sel, menjadi penyebab infeksi di usus. Kerusakan sel menyebabkan diare berdarah seperti lendir yang mirip dengan disentri basiler yang disebabkan oleh *Shigella*. Carrier manusia, menyebabkan penyakit secara langsung atau tidak langsung. Seseorang perlu menelan  $10^6$  sel dan masa

inkubasi, untuk menimbulkan gejala seperti kram perut, diare berair, sakit kepala, menggigil, dan demam. Patogen dalam jumlah besar dikeluarkan melalui tinja. Gejala dapat berlangsung selama 7 hingga 12 hari, namun pasien dapat tetap menjadi pembawa penyakit dan mengeluarkan patogen melalui tinja dalam waktu yang cukup lama. (Ray & Bhunia, 2020)

4) *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

Strain ini menyebabkan diare berat berdarah (kolitis hemoragik) dan sindrom uremik hemoragik (*hemorrhagic uremic syndrome*, HUS) pada manusia. Seperti *Escherichia coli* lainnya, organisme ini tumbuh cepat pada suhu antara 30°C hingga 42°C, tumbuh buruk pada suhu antara 44°C hingga 45°C, dan tidak dapat tumbuh dibawah suhu 10°C. Organisme ini dirusak oleh suhu dan waktu pasteurisasi dan mati pada suhu 64,3°C dalam waktu 9,6 detik. Sel tahan dengan baik pada makanan dengan suhu -20°C. (Ray & Bhunia, 2020)

5) *Enteraggregative Escherichia coli* (EAEC)

Strain ini menjadi penyebab diare pada anak-anak dan orang dewasa yang berlangsung sekitar 14 hari dan umum terjadi di negara-negara berkembang. Diare pada anak mirip dengan ETEC dan menyebabkan kerusakan mukosa ringan namun signifikan. Selama infeksi, organisme ini menghasilkan fimbria perekat agregasi yang membantu bakteri membentuk agregat seperti tumpukan bata yang khas pada sel usus dan menyebabkan kerusakan mukosa. Selain itu, organisme ini juga dapat menghasilkan dua jenis racun: EAST (*enteroaggregative heat stable toxin*) dan hemolisin, yang akan membentuk pori (lubang). (Ray & Bhunia, 2020)

b. *Enterobacter*

*Enterobacter* adalah bakteri berbentuk batang lurus (basil) dengan ukuran 1x2 mm, bersifat motil, mesofilik. Bakteri ini bisa

ditemukan didalam saluran pencernaan manusia, hewan, burung, dan juga dapat ditemukan di lingkungan luar. *Enterobacter* masuk ke dalam kelompok *Coliform* sebagai bakteri indikator sanitasi. (Ray & Bhunia, 2020)

Sifat-sifat bakteri ini antara lain mirip dengan *Klebsiella*. Kultur bakteri menunjukkan sifat motil dan empat spesies dapat dibedakan secara biokimia. Struktur antigen O, H, dan K. *Enterobacter cloacae* sering menyebabkan infeksi saluran kemih, sedangkan beberapa strain *Enterobacter cloacae* mampu menghasilkan enterotoksin dan resisten terhadap antibiotik. (Soedarto, 2015)

c. *Klebsiella*

*Klebsiella* adalah bakteri berbentuk batang sedang dengan ukuran  $1 \times 4 \mu\text{m}$ . biasanya bisa muncul secara tunggal atau berpasangan. Bersifat motil, berselaput, mesofili. Bakteri ini dapat ditemukan di isi usus manusia, hewan, burung, tanah, air, dan padi-padian. *Klebsiella* masuk ke dalam kelompok *Coliform* sebagai bakteri indikator sanitasi. (Ray & Bhunia, 2020)

d. *Citrobacter*

*Citrobacter* adalah bakteri berbentuk batang lurus (basil) dengan ukuran  $1 \times 4 \mu\text{m}$ . Ada yang tunggal dan ada pula yang berpasangan, biasanya motil, mesofili. Bakteri ini bisa ditemukan didalam saluran pencernaan manusia, hewan, burung, dan juga dapat ditemukan di lingkungan luar. *Citrobacter* masuk kedalam kelompok bakteri *Coliform* sebagai bakteri indikator sanitasi. (Ray & Bhunia, 2020)

Sifat-sifat *Citrobacter* antara lain dapat menginfeksi bagian tubuh manapun, terutama saluran kemih, abses otak, dan meningitis janin yang disebabkan oleh *Citrobacter diversus*. *Citrobacter freundii* mungkin bersifat enterotoksigenik. Mempunyai struktur antigen O, H dan K. (Soedarto, 2015)

### 3. Pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN)

Metode *Most Probable Number* (MPN) adalah suatu metode penentuan jumlah mikroorganisme menggunakan metode Angka Paling Mungkin yang banyak dipakai di lingkungan sanitasi untuk mengetahui jumlah koloni *Coliform* pada air, susu, dan makanan lainnya. Metode MPN digunakan untuk menghitung jumlah bakteri yang mampu fermentasi laktosa dan membentuk gas, misalnya bakteri *Coliform*. Metode MPN menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana prinsipnya adalah menghitung jumlah tabung positif yang ditandai dengan timbulnya kekeruhan dan gas di dalam tabung Durham. Pengujian MPN dilakukan pada sampel cair. Jika sampel yang akan digunakan berbentuk padat, maka harus dibuat cairan (suspense) terlebih dahulu dari sampel dengan perbandingan 1:10. (Yusmaniar dkk, 2017)

Tahap pemeriksaan MPN terdiri dari tiga tahap, yaitu:

#### a. Uji Pendugaan

Uji pendugaan ini menentukan keberadaan bakteri *Coliform* dengan menunjukkan pertumbuhan dan produksi gas setelah menginokulasi tabung reaksi dengan sampel air yang mengandung laktosa yang difermentasi. (Pollack, dkk, 2016). Ketika telah ditanam pada media *lactose broth* lalu dalam waktu 1x24 jam terdapat kekeruhan dan gas pada tabung Durham maka bisa dikatakan positif dan diperkirakan terdapat bakteri golongan *Coliform* pada sampel yang diperiksa. Karena bakteri *Coliform* bersifat mampu memfermentasi media *lactose broth* pada suhu 35-37°C. (Antarini, dkk, 2012)

#### b. Uji Penegasan

Uji penegasan dilakukan pada sampel untuk memastikan lebih lanjut adanya kontaminasi *Coliform* pada sampel air. Tabung reaksi yang hasil tesnya positif pada uji pendugaan digunakan sebagai sampel inokulasi untuk pengujian ini. (Pollack, dkk, 2016). Uji penegasan menggunakan media BGLB (*Briliant Green Lactose*

*Bile Broth*). Untuk setiap tabung media *lactose broth* yang positif akan ditanam pada dua tabung BGLB lalu diinkubasi 1x24 jam pada suhu 35-37°C untuk melihat bakteri golongan *Coliform* dan pada suhu 44°C untuk melihat bakteri golongan *E. coli*. Untuk tabung BGLB yang positif ditunjukkan dengan terdapatnya gas didalam tabung durham. Hasil yang didapat lalu dicatat dan dicocokkan dengan table *Most Probable Number* (MPN). (Antarini, dkk, 2012)

c. Uji Pelengkap

Uji pelengkap dilakukan untuk identifikasi jenis bakteri *Coliform* pada sampel yang ditandai dengan tabung positif pada uji penegasan. Hasil positif pada uji penegasan, diambil satu mata ose lalu digoreskan pada permukaan media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMB), diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil yang menunjukkan terdapat bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan dengan tumbuhnya koloni berwarna hijau metalik. (Yusmaniar dkk, 2017)

Ragam yang digunakan pada metode MPN, yaitu:

a. Ragam 511 (5x10 ml, 1x1 ml, 1x0,1 ml)

Ragam yang digunakan untuk sampel yang telah melewati proses pengolahan atau yang diperkirakan angka kumannya rendah.

b. Ragam 555 (5x10 ml, 5x1 ml, 5x0,1 ml)

Ragam yang digunakan untuk sampel yang belum melewati proses pengolahan atau yang diperkirakan angka kumannya tinggi.

c. Ragam 333 (3x10 ml, 3x1 ml, 3x0,1 ml)

Ragam alternatif untuk ragam 555, disaat jumlah tabung dan persediaan media terbatas. (Soemarno, 2000)

## B. Kerangka Konsep

Variabel bebas

variabel terikat

