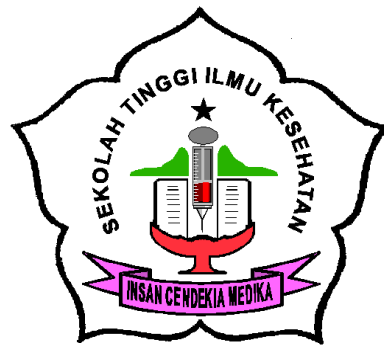


**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU
KEDELAI YANG DIJUAL DI TOKO-TOKO DESA SUMOBITO
JOMBANG**

KARYA TULIS ILMIAH



NOR ALFIYAH

13.131.0066

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2016**

IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU
KEDELAI YANG DIJUAL DI TOKO-TOKO DESA SUMOBITO
JOMBANG

Proposal Karya Tulis Ilmiah
Diajukan Dalam Rangka Memenuhi Persyaratan
Menyelesaikan Studi pada Program Studi Diploma III Analisis Kesehatan

NOR ALFIYAH

13.131.0066

**PROGRAM STUDI DIPLOMA III ANALIS KESEHATAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA
JOMBANG
2016**

IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU KEDELAI YANG DIJUAL DI TOKO- TOKO DESA SUMOBITO JOMBANG

Oleh:

Nor Alfiah, Ali Maududi, Sri Lestari

STIKES ICME JOMBANG

ABSTRAK

Susu kedelai adalah produk minuman seperti susu sapi yang terbuat dari kedelai. Susu kedelai merupakan minuman nabati bergizi tinggi. Susunan asam amino dari protein susu kedelai mirip dengan susu sapi. Susu kedelai bukan suatu obat, tetapi minuman tambahan yang dapat menjaga kondisi tubuh agar tetap sehat sehingga tidak mudah terserang penyakit. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai.

Desain penelitian ini adalah deskriptif. Sampel diambil dari toko-toko yang menjual susu kedelai di desa Sumobito Jombang dengan jumlah populasi 13 susu kedelai dari produksi susu kedelai yang berbeda, pengambilan sampel dengan teknik total sampling. Variabel dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai. Pengumpulan data diperoleh dengan mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai. Pengolahan data dengan *editing*, *coding*, dan *tabulating*. Analisa data menggunakan tabel MPN.

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa sebanyak 8 sampel (61,54%) susu kedelai mengandung bakteri *Escherichia coli* dan sebanyak 5 sampel (38,46%) susu kedelai tidak mengandung bakteri *Escherichia coli*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sebagian besar susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito Jombang positif mengandung bakteri *Escherichia coli*. Sehingga tidak layak untuk dikonsumsi.

Kata Kunci : Identifikasi, *Escherichia coli*, susu kedelai

*IDENTIFICATION OF BACTERIA Escherichia coli ON SOY MILK WHICH SOLD
IN SOME SHOPS AT SUMOBITO JOMBANG*

By :

Nor Alfiyah, Ali Maududi, Sri Lestari

STIKes ICMes JOMBANG

ABSTRACT

Soy milk is a soft drink product like milk of cow that produced from soybeans. Soy milk is a drink which is contained high nutrition of vegetable. Composition of amino acid from the protein of soy milk is like milk of cow. Soy milk is not a drug, but the extra drink be able to keep body condition in order to stay healthy, so become a susceptible human to disease. The objective of this study to investigate the existence of Escherichia coli bacteria in soy milk.

Research design of this study is descriptive. Samples were taken from some shops that sold soy milk in Sumobito Jombang by the population 13 soy milks from different soy milk product, the sampling by a total sampling technique. The variable of this study is the bacterium Escherichia coli on soy milk. The collection of data was obtained by identifying the bacterium Escherichia coli on soy milk. The data processing by editing, coding, and tabulating. The analysis of data by using the MPN table.

Based on result of the study that as many as 8 samples (61.54%), soy milk contains bacteria Escherichia coli and as many as 5 samples (38.46%) of soy milk does not contain bacteria Escherichia coli.

The results of this study showed that most of the soy milks which sold at some shops in Sumobito Jombang are Positive bacteria Escherichia coli.

Keywords: Identification, Escherichia coli, soy milk

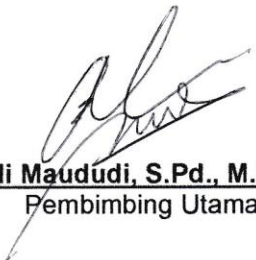
PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH

Judul KTI : IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA
SUSU KEDELAI YANG DIJUAL DI TOKO-TOKO
DESA SUMOBITO JOMBANG

Nama Mahasiswa : Nor Alfiah

NIM : 131310066

Menyetujui,
Komisi Pembimbing


Ali Maududi, S.Pd., M.Kes
Pembimbing Utama


Sri Lestari, S.KM
Pembimbing Anggota

Mengetahui,


Bambang Tutuko, S.H., S.Kep., Ns., M.H
Ketua STIKes ICMe



Erni Setiyorini, S.KM., M.M
Ketua Program Studi

HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI

**IDENTIFIKASI BAKTERI *Escherichia coli* PADA SUSU KEDELAI
YANG DIJUAL DI TOKO-TOKO DESA SUMOBITO JOMBANG**

Disusun oleh

NOR ALFIYAH

Telah dipertahankan di depan dewan penguji

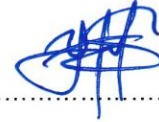
Dinyatakan telah memenuhi syarat

Jombang, 06 Agustus 2016

Komisi Penguji,

Penguji Utama

Sri Sayekti, S.Si., M.Ked


.....

Penguji Anggota

1. Ali Maududi, S.Pd., M.Kes


.....

2. Sri Lestari, S.KM


.....

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nor Alfiah

NIM : 13.131.0066

Tempat, tanggal lahir : Jombang, 11 Mei 1995

Institusi : STIKes ICMe Jombang

Menyatakan bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul “Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Susu Kedelai Yang Dijual Di Toko-toko Desa Sumobito Jombang” adalah bukan Karya tulis ilmiah milik orang lain baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali dalam bentuk kutipan yang telah disebutkan sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan apabila pernyataan ini tidak benar, saya bersedia mendapatkan sanksi.

Jombang, 07 Agustus 2016

Yang menyatakan,

Nor Alfiah

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jombang, 11 Mei 1995 dari pasangan Bapak Abdul Karim dan Ibu Suherni. Penulis merupakan putri ke satu dari dua bersaudara. Tahun 2007 penulis lulus dari Madrasah Ibtidaiyah Muhtadiul-ulum Carang Rejo Kecamatan Kesamben Kabupaten Jombang, tahun 2010 penulis lulus dari Sekolah Menengah Pertama Negeri 1 Kesamben, Jombang dan pada tahun 2013 penulis lulus dari Sekolah Menengah Atas Negeri Kesamben Jombang. Pada tahun 2013 penulis lulus seleksi masuk Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan “Insan Cendekia Medika” Jombang. Penulis memilih Program Studi Diploma-III Analis Kesehatan dari lima Program Studi yang ada di Sekolah Tinggi Ilmu kesehatan “Insan Cendekia Medika” Jombang.

Demikian riwayat hidup ini dibuat dengan sebenarnya.

Jombang, 16 April 2016

Nor Alfiyah

MOTTO

Sebuah tantangan akan selalu menjadi beban

Jika itu hanya dipikirkan,

Sebuah Cita-cita juga adalah beban,

Jika itu hanya angan-angan

PERSEMBAHAN

Kupersembahkan Karya Tulis Ilmiah ini untuk orang tercinta, terkasih, tersayang, untuk kedua orang tuaku yang selalu mendukungku di setiap langkahku, yang selalu mengupayakan yang terbaik untukku, yang selalu mendoakanku dalam setiap usahaku. Terimakasih untuk semuanya. Semua usaha, semua proses, semua harapan, semua impian yang telah memberi semangat untuk melangkah. Karena sebuah usaha kerja keras tidak akan mengkhianati hasil.

Terimakasih juga kepada pembimbing Karya Tulis Ilmiah. Keberhasilan ini tidak lepas dari semua pihak yang membantu, dosen pembimbing yang selalu penuh cinta memberikan masukan atas penyusunan karya tulis ilmiah ini, tidak ketinggalan pula untuk para teman-teman seperjuangan dalam pendidikan yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan terhadap perjuangan selama ini. Tiada kata lagi selain memanjatkan rasa syukur kepada Allah SWT yang selalu memberikan rahmad, taufiq, dan hidayahnya, sehingga saya bisa menyelesaikan pendidikan dengan baik dan tepat waktu. Kebahagiaan pula yang tak bisa digambarkan oleh apapun, bahagia bisa berjuang bersama teman-teman seperjuangan yang mempunyai karakteristik yang berbeda. Terimakasih semuanya.

KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang, segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat-Nya, atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan proposal karya tulis ilmiah dengan judul: "Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Susu Kedelai yang dijual di Toko-toko desa Sumobito "sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Ahli Madya Analis Kesehatan STIKes Insan Cendekia Medika Jombang.

Keberhasilan ini tentu tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan yang berbahagia ini penulis ingin menghaturkan terima kasih kepada H.Bambang Tutuko, S.H., S.Kep.Ns. MH., Erni Setiyorini, S.KM., MM., Ali Maududi, S.Pd., M.Kes., Sri Lestari, SKM, ayah & ibu, serta semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu penulis dalam penyusunan proposal karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa dengan segala keterbatasan yang dimiliki, proposal karya tulis ilmiah yang penulis susun ini masih memerlukan penyempurnaan. Kritik dan saran sangat diharapkan oleh penulis demi kesempurnaan karya ini.

Akhir kata, semoga proposal karya tulis ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jombang, 26 April 2016

Penulis,

Nor Alfivah

DAFTAR ISI

| | Halaman |
|---|---------|
| HALAMAN SAMBUNG | i |
| HALAMAN JUDUL | ii |
| ABSTRACT | iii |
| ABSTRAK | iv |
| LEMBAR PERSETUJUAN KARYA TULIS ILMIAH | v |
| LEMBAR PENGESAHAN PENGUJI..... | vi |
| SURAT PERNYATAAN..... | vii |
| RIWAYAT HIDUP..... | viii |
| MOTTO..... | ix |
| PERSEMBAHAN | x |
| KATA PENGANTAR | xi |
| DAFTAR ISI..... | xii |
| DAFTAR TABEL..... | xiv |
| DAFTAR GAMBAR..... | xv |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvi |
| BAB I PENDAHULUAN | |
| 1.1 Latar Belakang..... | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 5 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | |
| 2.1 Susu Kedelai | 6 |
| 2.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 14 |
| 2.3 Higiene dan Sanitasi | 24 |

| | |
|---|----|
| 2.4 Kontaminasi Mikroba pada makanan dan minuman | 25 |
| BAB III KERANGKA KONSEPTUAL | |
| 3.1 Kerangka Konseptual | 27 |
| 3.2 Penjelasan Kerangka Konseptual | 28 |
| BAB IV METODE PENELITIAN | |
| 4.1 Waktu dan Tempat Penelitian | 29 |
| 4.2 Desain Penelitian | 29 |
| 4.3 Kerangka Kerja..... | 30 |
| 4.4 Populasi, sampling dan sampel | 31 |
| 4.5 Definisi Operasional Variabel..... | 32 |
| 4.6 Instrumen Penelitian dan cara penelitian | 33 |
| 4.7 Teknik Pengolahan data | 38 |
| 4.8 Etika Penelitian | 40 |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN | |
| 5.1 Hasil Penelitian..... | 41 |
| 5.2 Pembahasan | 43 |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN | |
| 6.1 Kesimpulan..... | 47 |
| 6.2 Saran | 47 |
| DAFTAR PUSTAKA | |
| LAMPIRAN | |

DAFTAR TABEL

| No. Tabel | Uraian | Halaman |
|-----------|--|---------|
| Tabel 2.1 | Komposisi Susu Kedelai dan Susu Sapi dalam 100 gr | 8 |
| Tabel 2.2 | Standart Mutu Kedelai (SNI 01-3922-1995) | 12 |
| Tabel 2.3 | Syarat Mutu Kedelai Berdasarkan Susu Kedelai | 14 |
| Tabel 4.4 | Pertumbuhan Bakteri <i>Coliform</i> Pada Media EMB | 38 |
| Tabel 5.1 | Karakteristik Susu Kedelai Berdasarkan Spesifikasi Kekeruhan | 42 |
| Tabel 5.2 | Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan bakteri <i>Escherichia coli</i> pada Susu Kedelai | 42 |

DAFTAR GAMBAR

| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 2.1 Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 15 |
| Gambar 2.2 Koloni Bakteri <i>Escherichia coli</i> | 16 |
| Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Identifikasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> yang dijual di Toko-toko Desa Sumobito..... | 27 |
| Gambar 4.4 Pertumbuhan bakteri pada media TSIA | 38 |

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1 Lembar Konsultasi
- Lampiran 2 Gambar alat dan bahan
- Lampiran 3 Gambar Pembuatan Media
- Lampiran 4 Prosedur Pemeriksaan
- Lampiran 5 Gambar Hasil Pemeriksaan
- Lampiran 6 Hasil Pemeriksaan
- Lampiran 7 Surat Keterangan Penelitian
- Lampiran 8 Jadwal Penelitian
- Lampiran 8 Tabel Mc.Crady

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Secara umum susu kedelai memiliki kandungan vitamin B2, niasin, piridoksin, dan golongan vitamin B yang tinggi, serta kaya akan vitamin E dan K. Menurut badan pengawasan obat dan makanan Amerika Serikat (*Food and Drugs Administration/FDA*), susu kedelai bermanfaat bagi kesehatan karena dapat mengurangi tekanan darah tinggi, mengurangi resiko serangan jantung, mengurangi keluhan yang ditimbulkan oleh menopause, mengurangi resiko kanker payudara, karena mengandung isoflavon, dan membantu mencegah osteoporosis. Isoflavon dijuluki estrogen nabati, karena fungsinya yang mendorong metabolisme estrogen. Dalam uji coba laboratorium, terbukti senyawa isoflavon mampu menghambat pertumbuhan beberapa jenis kanker, diantaranya kanker prostate. Isoflavon berfungsi melakukan regulasi, untuk menghambat tumbuhnya kanker. Susu kedelai mampu menghalau kolesterol jahat (LDL), karena susu kedelai mengandung lesitin. Lesitin mempunyai sifat melarutkan kolesterol dalam darah, karena berperan sebagai pengemulsi (Mudjajanto dan Kusuma, 2005:15).

Penelitian Balia dkk dalam Sejati (2010) dengan menggunakan medium padat menunjukkan bahwa susu kedelai dari pengolahan rakyat di Lembang Bandung mengandung bakteri total pada susu kedelai adalah $3,70 \times 10^6$ CFU/ml, sedangkan dari susu kedelai pasteurisasi tanpa kemasan di pedagang kaki lima diperoleh jumlah bakteri total $3,45 \times 10^6$ CFU/ml. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri total pada susu kedelai ternyata melebihi batas maksimum cemaran yang ditetapkan oleh SNI 01-3830-1995 yaitu 1×10^6

CFU/ml baik dari pengolahan rakyat skala industri rumah tangga maupun dari pedagang kaki lima. Penelitian lain yang dilakukan oleh Helpida dkk (2013) dengan menggunakan medium cair menunjukkan bahwa susu kedelai produk rumah tangga yang dijual di Gedung Olahraga Haji Agus Salim Padang, dari 5 sampel susu kedelai yang diperiksa hanya 40% yang layak untuk diminum sedangkan 60% tidak layak untuk diminum, disebabkan karena susu kedelai tersebut mengandung bakteri koliform dan *Escherichia coli*. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 416/Menkes/Per/IX/1990 tentang Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air, yaitu kandungan *Escherichia coli* dan total koliform sebesar 0/100 ml sampel (Suprihatin dan Andayani, 2008). Sedangkan salah satu syarat susu yang aman untuk dikonsumsi yakni mengandung kontaminasi *Escherichia coli* < 3/ml (SNI 7388:2009).

Di kota Mojokerto, jumlah kasus diare dari tahun ke tahun terus bertambah. Kurun Januari hingga Juni 2013, sudah tercatat 2.925 kasus. “Perilaku buang air besar sembarangan itu menjadi penyebab dominan dari penyakit diare” (Wahyu, 2013). Kasus diare di Jombang pada tahun 2014 yang ditemukan dan ditangani di Kabupaten Jombang adalah 20.963. Total kasus diare tahun 2014 menurun dibanding jumlah kasus pada tahun 2013 mencapai 26.445 kasus. Penyakit diare sampai saat ini masih menjadi masalah kesehatan masyarakat, karena masih kurangnya perilaku hidup bersih dan sehat masyarakat dalam kehidupan sehari-hari. Hal ini menyebabkan sumber air di daerah tersebut akan tercemar oleh bakteri yang akan menimbulkan berbagai penyakit. Inilah yang menjadi alasan tingginya kemungkinan terdapat bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai, karena air salah satu bahan baku yang akan diolah dalam pembuatan susu kedelai. Bakteri *Escherichia coli* dapat dijadikan indikator mikrobiologis atas

terkontaminasinya sumber air atau makanan oleh tinja manusia. Susu kedelai terkontaminasi oleh bakteri bisa disebabkan dari peralatan pemrosesan yang digunakan kotor, pencucian kedelai yang kurang bersih, pengolahan yang kurang higienis, dan perebusan yang kurang maksimal.

Susu kedelai sangat baik dikonsumsi oleh manusia, karena memiliki gizi yang tinggi dan tidak kalah dengan susu sapi. Dengan harga yang relatif murah dibandingkan susu sapi, susu kedelai ini bisa dikonsumsi oleh berbagai kalangan dari anak kecil, dewasa, hingga usia tua. Saat ini banyak beredar minuman susu kedelai kemasan plastik di pasaran. Secara umum, pedagang menggunakan kemasan plastik karena murah dan praktis. Minuman susu kedelai kemasan plastik tidak terdaftar di BPOM sehingga belum diketahui apakah sudah memenuhi SNI atau belum. SNI 01-3830-1995 tentang susu kedelai meliputi pengaturan pH, sifat organoleptik, kadar protein, dan total mikroba. Dengan beredarnya susu kedelai kemasan plastik yang tidak berlabel di pasaran, ditakutkan minuman susu kedelai tersebut tidak memenuhi standar yang telah ditetapkan baik dari segi nutrisi dan keamanannya yang akan merugikan konsumen. Oleh karena itu perlu dilakukan uji mikrobiologi pada susu kedelai, untuk mengetahui apakah layak atau tidak untuk dikonsumsi.

Escherichia coli adalah bakteri yang merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia dan juga merupakan bakteri indikator kualitas air karena keberadaannya di dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. Penyakit lain yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* yaitu infeksi saluran kemih, sepsis, dan meningitis. Penularan *Escherichia coli* dalam menyebabkan diare dapat terjadi melalui air yang terkontaminasi kotoran

manusia yang terinfeksi. Selain itu penularan juga dapat terjadi melalui kontak dari pekerja yang terinfeksi selama makanan atau minuman diproses berlangsung. *Escherichia coli* memfermentasikan laktosa dan memproduksi indol yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri pada makanan dan air.

Berdasarkan uraian di atas, terlihat bahwa tinggi kemungkinan kontaminasi bakteri pada susu kedelai. Di daerah Sumobito terdapat beberapa toko yang menjual susu kedelai dan beberapa penjual susu kedelai yang dijual keliling di desa-desa sekitar. Inilah yang menjadi salah satu alasan peneliti ingin mengidentifikasi apakah dalam susu kedelai tersebut terkontaminasi oleh bakteri atau tidak. Maka peneliti mengambil penelitian tentang identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang dijual di toko-toko di desa Sumobito untuk mengetahui kualitas dari susu kedelai apakah layak dikonsumsi atau tidak oleh masyarakat.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terdapat bakteri *Escherichia coli* dalam susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito Jombang?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui adanya bakteri *Escherichia coli* pada Susu Kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Dapat menambah wawasan dan pengetahuan tentang bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai.

1.4.2 Manfaat Praktis

a. Bagi Peneliti

Sebagai sarana pembelajaran bagi peneliti dalam melakukan identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai.

b. Bagi Intitusi Pendidik

Dapat dijadikan referensi dalam bidang bakteriologi bagi institusi kesehatan khususnya Program Studi Analis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang.

c. Bagi Masyarakat

Pemeriksaan ini akan berguna bagi masyarakat agar mengetahui bahwa tinggi kemungkinan terdapat bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang disebabkan oleh pengolahan susu kedelai yang kurang higienis, sehingga masyarakat lebih berhati-hati dalam mengonsumsi susu kedelai dan lebih memperhatikan lagi tentang kebersihan di lingkungan sekitarnya untuk memperkecil resiko keracunan makanan oleh bakteri *Escherichia coli*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu Kedelai

Susu kedelai adalah produk minuman seperti susu sapi, tetapi dibuat dari kedelai. Susu kedelai merupakan minuman nabati bergizi tinggi. Susunan asam amino dari protein susu kedelai mirip dengan susu sapi. Pada individu yang mengalami *lactose intolerance* (alergi terhadap laktosa) atau bagi mereka yang tidak menyukai susu sapi dan golongan vegetarian, maka susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi. Susu kedelai berasal dari Cina, kemudian berkembang di Jepang dan setelah perang Dunia II berkembang di negara ASEAN (Widowati, 2007).

Susu kedelai adalah minuman yang diperoleh dari sari kedelai, yang kaya akan nutrisi. Susu kedelai bukan suatu obat, tetapi minuman tambahan yang dapat menjaga kondisi tubuh agar tetap sehat sehingga tidak mudah terserang penyakit. Bahan baku yang digunakan adalah biji kedelai, dan sebagai tambahannya digunakan pemanis dan pengaroma. Protein susu kedelai memiliki susunan asam amino yang hampir sama dengan susu sapi sehingga susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi orang yang alergi terhadap protein hewani (Cahyadi, 2007).

Susu kedelai merupakan sumber utama penghasil susu berbahan nabati yang mempunyai nilai gizi yang tinggi. Susu kedelai juga mampu menggantikan peran produk susu sapi sebagai sumber protein (Warisno dan Dahana, 2010). Susu kedelai merupakan salah satu minuman suplemen (tambahan) yang dianjurkan diminum secara teratur sesuai kebutuhan tubuh. Sebagai minuman tambahan, artinya susu kedelai bukan merupakan obat,

tetapi bisa menjaga kondisi tubuh agar tetap fit sehingga tidak mudah terserang penyakit. Pada prinsipnya terdapat dua bentuk susu kedelai, yaitu susu kedelai cair dan susu kedelai bubuk. Bentuk cair jauh lebih banyak dibuat dan diperdagangkan. Susu kedelai dapat disajikan dalam bentuk murni, artinya tanpa penambahan gula dan cita rasa baru. Dapat juga ditambah gula atau flavor (essen/cita rasa) seperti moka, pandan, vanili, coklat, strawberry dan lain-lain. (Amrin, 2005).

Susu kedelai dapat dibuat dengan teknologi dan peralatan sederhana, serta tidak memerlukan keterampilan khusus, sehingga semua orang dapat membuat sendiri di rumah. Selain untuk konsumsi sendiri, susu kedelai juga dapat menjadi ladang usaha yang prospektif bila dikelola dengan baik. Kendala utama yang dihadapi produsen adalah cepat rusaknya susu kedelai apabila susu kedelai tidak disimpan di lemari pendingin. Susu kedelai yang rusak ditandai dengan berubahnya bau, warna, rasa, atau mengental, kemudian terjadi pemisahan air dengan endapan sari kedelai (Cahyadi, 2007). Berdasarkan beberapa pendapat di atas dapat disimpulkan bahwa susu kedelai adalah suatu produk olahan kedelai yang menyehatkan, karena mempunyai nilai gizi yang tinggi dan bisa digunakan sebagai pengganti susu sapi.

2.1.1 Komposisi Susu Kedelai

Susu kedelai yang mengandung protein nabati tidak kalah gizinya dengan susu yang berasal dari hewan (susu sapi). Komposisi gizi di dalam susu kedelai dan susu sapi dapat dilihat pada Tabel 2.1 Dapat dilihat bahwa kandungan protein dalam susu kedelai hampir sama dengan kandungan protein dalam susu sapi.

Tabel 2.1 Komposisi susu kedelai dan susu sapi dalam 100 gr.

| Komposisi | Susu Kedelai | Susu sapi |
|------------------------|---------------------|------------------|
| Kalori (kkal) | 41,0 | 61,00 |
| Protein (g) | 3,50 | 3,20 |
| Lemak (g) | 2,50 | 3,50 |
| Karbohidrat (g) | 5,00 | 4,30 |
| Kalium (g) | 50,00 | 143,00 |
| Fosfor (mg) | 45,00 | 60,00 |
| Besi (mg) | 0,70 | 1,70 |
| Vitamin A (SI) | 200,00 | 130,00 |
| Vitamin B (mg) | 0,08 | 0,03 |
| Vitamin C (mg) | 2,00 | 1,00 |
| Air (%) | 87,00 | 88,33 |

Sumber : Cahyadi (2007)

2.1.2 Manfaat Susu kedelai

Dalam 100 gram susu kedelai, terkandung 4,1 gram protein, sedangkan pada susu sapi 3,5 gram protein. Karena berasal dari bahan nabati, susu kedelai memiliki sekitar 9 kali lebih sedikit lemak jenuh dan memiliki sekitar 9 kali lebih banyak asam lemak sehat daripada susu sapi. Susu kedelai dapat menurunkan resiko penyakit jantung. Konsumsi isoflavon dari kedelai juga menurunkan risiko kanker, mencegah osteoporosis, diabetes mellitus, hipertensi, aterosklerosis, migrain, dan penuaan dini. Pada wanita, kandungan isoflavon dalam susu kedelai juga bermanfaat untuk mengatasi syndrome menopause. Penelitian terhadap pria yang minum 2 gelas susu kedelai setiap hari menunjukkan risiko kanker prostat 70% lebih rendah (Susianto, 2010:137)

Isoflavon dan fitosterol merupakan senyawa dalam kedelai yang mempunyai efek bioaktif dan digolongkan sebagai fitokimia. Isoflavon dan fitosterol mempunyai efek yang berbeda dalam menurunkan kadar kolesterol total. Fitosterol merupakan sterol yang berasal dari

tumbuhan yang jika dikonsumsi dapat menghambat absorpsi dari kolesterol, baik berasal dari makanan maupun kolesterol yang diproduksi dari hati. Hambatan ini terjadi karena fitosterol berkompetisi dan menggantikan posisi kolesterol dalam *micelle*. Adanya mekanisme tersebut, maka kolesterol yang terserap oleh usus juga sedikit sehingga pembentukan kilomikron dan VLDL juga terhambat sehingga kadar LDL turun, kadar kolesterol total turun dan peningkatan pada kadar HDL (Silalahi, 2000).

Susu kedelai juga memiliki kelebihan lain, seperti bebas kolesterol, bebas laktosa, mengandung senyawa phytochemicals, termasuk isoflavon (*genistein, daidzein dan glycitein*), asam fitat dan saponin yang bermanfaat bagi kesehatan tubuh. Kandungan isoflavon memberikan manfaat sebagai antioksidan alami bagi tubuh. Isoflavon yang terdiri dari *daidzein* dan *genistein* berfungsi melindungi sel-sel tubuh dari efek kerusakan radikal bebas seperti penyakit atherosklerosis, peradangan sendi dan komplikasi diabetes (Fitriyono dkk, 2014 :53)

Susu kedelai mampu menghalau kolesterol jahat (LDL), karena susu kedelai mengandung lesitin. Lesitin mempunyai sifat melarutkan kolesterol dalam darah (pengemulsi). Selain lesitin dan isoflavon, zat gizi dalam susu kedelai yang dapat membantu mencegah penyakit jantung koroner dan stroke adalah vitamin E. Kandungan asam folat dan vitamin B6 dalam susu kedelai dapat mencegah penyakit jantung. Vitamin B6 dan asam folat bersama vitamin B12 berfungsi merangsang enzim untuk metabolisme homosistein. Homosistein adalah suatu bahan di dalam darah yang menyebabkan darah lebih mudah

menggumpal sehingga dapat menimbulkan serangan jantung (Mudjajanto dan Kusuma, 2005:20).

2.1.3 Proses pembuatan Susu kedelai

Setelah alat dan bahan yang akan dipergunakan telah disiapkan, hal-hal yang harus dilakukan dalam pembuatan susu kedelai menurut Mochammad Adnan (1984:77) adalah meliputi tahap-tahap: penyortiran, pencucian, perendaman, penghancuran hingga berbentuk bubur, kemudian penyaringan sehingga diperoleh sari kacang kedelai, kemudian pemanasan.

1. Penyortiran, dengan tujuan untuk memilih biji-biji kedelai yang berkualitas baik.
2. Pencucian, dengan tujuan menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat pada biji kedelai.
3. Perendaman, dengan tujuan untuk mempermudah dan mempercepat proses pelepasan kulit ari agar memudahkan proses penggilingan.
4. Penggilingan.

Penggilingan dilakukan dengan air dengan perbandingan 1:6 (b/v), dengan menggunakan perbandingan ini akan dihasilkan kekentalan seperti pada susu sapi dan juga akan didapatkan protein susu yang tinggi.

5. Penyaringan, dengan tujuan untuk memperoleh sari kedelai. Filtrat inilah yang nantinya akan menjadi susu kedelai
6. Pemanasan, dilakukan pada proses akhir pembuatan susu dengan tujuan untuk mematikan semua organisme yang bersifat patogen dan sebagian mikroorganisme yang ada sehingga tidak merubah cita rasa maupun komposisi susu.

2.1.4 Syarat Kualitas susu Kedelai

Persyaratan kebersihan dan sanitasi pengolahan susu kedelai harus memenuhi standar yang telah ditetapkan oleh pemerintah yaitu berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI No.942/Menkes/SK/VII/2003 Tentang Pedoman Persyaratan Hygiene Sanitasi Makanan Jajanan. Sedangkan penentuan kualitas air minum yaitu berdasarkan Kep Menkes RI No. 907/Menkes/SK/VII/2002 Tentang Syarat–syarat dan Penentuan Kualitas Air Minum. Prinsip higiene dan sanitasi minuman susu kedelai sangat penting dalam menjamin mutu susu kedelai. Hal ini disamping dapat menghasilkan minuman yang berkualitas baik dari aspek kelezatan dan gizi maupun keamanan pangan/kesehatan. Prinsip-prinsip higiene dan sanitasi pengolahan pangan perlu dipahami karena berperan besar sebagai faktor kunci keberhasilan usaha industri pangan. Sehubungan dengan itu, menurut Depkes RI (2004) ada 6 prinsip higiene sanitasi makanan dan minuman yang dapat menjamin keamanan pangan untuk dikonsumsi, yaitu:

1. Pemilihan Bahan Baku

Pemilihan bahan baku untuk pengolahan susu kedelai dipilih yang masih utuh, tidak mengandung kotoran dan busuk. Standar Mutu Kedelai dapat dilihat pada Tabel 2.2. Persyaratan mutu kedelai konsumsi menurut SNI 01-3922 1995 sebagai berikut:

- a. Bebas dari hama penyakit
- b. Bebas bau busuk, bau asam, apek, dan bau asing lain
- c. Bebas bahan kimia seperti insektisida dan fungisida.

Tabel 2.2 Standar Mutu Kedelai (SNI 01-3922-1995)

| Kriteria Mutu % | Mutu 1 | Mutu 2 | Mutu 3 | Mutu 4 |
|----------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Kadar air maksimum | Maks 13 | Maks 14 | Maks 14 | Maks 16 |
| Kadar kotoran maksimum | Maks 0 | Maks 1 | Maks 3 | Maks 3 |
| Butir belah maksimum | Maks 1 | Maks 2 | Maks 5 | Maks 5 |
| Butir rusak maksimum | Maks 1 | Maks 2 | Maks 5 | Maks 5 |
| Butir keriput maksimum | Maks 0 | Maks 1 | Maks 5 | Maks 5 |
| Butir warna lain maksimum | Maks 1 | Maks 3 | Maks 10 | Maks 10 |

Sumber : Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca panen Pertanian

2. Penyimpanan Bahan Baku

Cara penyimpanan biji kedelai untuk konsumsi dilakukan dengan dua cara yaitu penyimpanan di tempat terbuka dan di tempat kedap udara. Penyimpanan pada tempat terbuka kondisi lingkungan harus bersih agar biji kedelai tidak terkontaminasi kotoran, debu serta gangguan hama dan penyakit. Ruang penyimpanan sebaiknya memiliki ventilasi udara dan alat penghalang tikus dan kadar air biji diatur tidak lebih dari 14%. Upaya untuk meningkatkan daya simpan biji kedelai dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu ;

1. Menurunkan kadar air sesuai standar,
2. Menggunakan kemasan,
3. Kedelai dibersihkan dan bebas hama,
4. Menurunkan kelembaban,
5. Memberikan aerasi yang cukup dan
6. Memberantas hama secara periodik.

3. Pengolahan

Perilaku petugas/pekerja, pakaian, pengolahan, peralatan dan ruangan merupakan sumber cemaran yang dapat merusak produk

olahan yang sudah jadi. Beberapa faktor yang perlu diperhatikan pada tahap pengolahan sesuai kaidah higiene sanitasi adalah

- a. Sumber Daya Manusia/petugas (kondisi sehat, menjaga kebersihan, menggunakan penutup kepala dan sebagainya).
- b. Persiapan tempat pengolahan (ada ventilasi, ruangan bersih, tungku dilengkapi alat penangkap asap/hood).
- c. Peralatan masak (bahan peralatan tidak terbuat dari logam beracun, setiap peralatan mempunyai fungsi masing-masing, dan sebagainya).
- d. Wadah penyimpanan
- e. Pengangkutan/transportasi

Pencemaran makanan/minuman selama transportasi dapat berupa pencemaran fisik, mikroba maupun kimia. Untuk mencegahnya adalah dengan mengupayakan mengurangi sumber yang akan menyebabkan pencemaran.

- f. Penyajian/pemasaran

Saat ini susu kedelai sudah menjadi makanan/minuman yang memasyarakat dan menjadi jajanan anak sekolah. Dengan demikian penyajiannya diatur sedemikian rupa untuk menghindari cemaran dengan memperhatikan kebersihan dan mudah dibersihkan (wadah gelas/kaca).

Syarat mutu susu kedelai adalah syarat yang ditentukan oleh Dewan Standarisasi Nasional (DSN) terhadap susu yang akan dipasarkan. Syarat mutu susu menurut SNI No.01-3830-1995 adalah sebagai berikut :

Tabel 2.3 Syarat mutu susu kedelai berdasarkan SNI 01-3830-1995

| Kriteria uji | Satuan | Persyaratan | |
|----------------------------------|-----------|--------------------------------|------------------------|
| | | Susu | minuman |
| 1. Keadaan: | | | |
| 1.2 Bau | - | normal | normal |
| 1.3 Rasa | - | normal | normal |
| 1.4 Warna | - | normal | normal |
| 2. pH | - | 6,5-7,0 | 6,5-7,0 |
| 3. Protein | %b/b | min 2,0 | min 1,0 |
| 4. Lemak | %b/b | min 1,0 | min 0,30 |
| 5. Padatan jumlah | %b/b | min 11,50 | min 11,50 |
| 6. Bahan tambahan makanan | | | |
| 6.1 Pemanis buatan | | Sesuai dengan SNI 01-0222-1987 | |
| 6.2 Pewarna | | | |
| 6.3 Pengawet | | | |
| 7. Cemaran logam | | | |
| 7.1 Timbal (Pb) | mg/kg | maks. 0,2 | maks 0,2 |
| 7.2 Tembaga (Cu) | mg/kg | maks. 2 | maks. 2 |
| 7.3 Seng (Zn) | mg/kg | maks. 5 | maks. 5 |
| 7.4 Timah (Sn) | mg/kg | maks.40(250) | maks.40(250) |
| 7.5 Merkuri (Hg) | mg/kg | maks. 0,03 | maks 0,03 |
| 8. Cemaran Arsen (As) | mg/kg | maks 0,1 | maks 0,1 |
| 9. Cemaran mikroba | | | |
| 9.1 Angka lempeng total | koloni/ml | maks 2x10 ² | maks 2x10 ² |
| 9.2 Bakteri bentuk koli | APM/ml | maks 20 | maks 20 |
| 9.3 <i>Escherichia coli</i> | APM/ml | <3 | <3 |
| 9.4 <i>Salmonella</i> | - | negatif | negatif |
| 9.5 <i>S. aureus</i> | APM/ml | 0 | 0 |
| 9.6 <i>Vibrio sp</i> | - | negatif | negatif |
| 9.7 Kapang | koloni/ml | maks 50 | maks 50 |

SNI:1995

2.2 Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah salah satu bakteri yang termasuk kelompok Koliform dan hidup secara normal di dalam kotoran manusia maupun hewan, oleh karena itu disebut juga *coliform* fekal. Bakteri *coliform* lainnya berasal dari hewan dan tanaman mati disebut *coliform* non-fekal. *Escherichia coli* merupakan bakteri bersifat Gram negatif, berbentuk batang dan tidak membentuk spora (Purnamasari, 2009). *Escherichia coli* adalah bakteri yang

merupakan bagian dari mikroflora yang secara normal ada dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas.



Gambar 2.1 Bakteri *Escherichia coli*.
(Sumber:<http://www.academia.edu/4139114/e.coli>)

2.2.1 Klasifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli dapat diklasifikasikan sebagai berikut, kingdom *Bacteria*, filum *Proteobacteria*, kelas *Gamma proteiaceae*, ordo *Enterobacteriales*, family *Enterobacteriaceae*, genus *Escherichia*, spesies *Escherichia coli*.

Escherichia coli juga merupakan bakteri indikator kualitas air karena keberadaannya di dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh feses, yang kemungkinan juga mengandung mikroorganisme *enteric* patogen lainnya. *Escherichia coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare (Sanjaya, 2012). *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *Escherichia coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Kusuma, 2010).



Gambar 2.2 koloni bakteri *Escherichia coli*. Sumber: (<http://www.fedcosierra.com/2011/12/penyakit-colibacillosis-akibat-bakteri.html>)

2.2.2 Epidemiologi

Enterohemoragik Escherichia coli (EHEC) kini merupakan emerging cause keracunan makanan di AS dan Kanada. Reservoir utama EHEC adalah ternak lembu dan sapi. Di Amerika Serikat, diperkirakan telah terjadi 100.000 kasus pencemaran akibat *shiga-toxin-producing Escherichia coli* pertahun, dan hampir 50% didominasi oleh galur selain O157:H7. Sementara, *Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC)* dan galur lain menyebabkan angka kesakitan hingga lebih dari 150.000 setahun. Pada tingkat dunia, ETEC telah mengakibatkan lebih dari 600 juta kasus diare setahun dengan korban meninggal 700.000 anak balita, terutama di negara berkembang. Diare petualang (*traveller's diarrhoea*) juga disebabkan oleh *Escherichia coli* (Arisman, 2002: 93).

2.2.3 Patogenitas

Escherichia coli menjadi patogen jika jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus. *Escherichia coli* menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare. *Escherichia coli* berasosiasi dengan enteropatogenik menghasilkan enterotoksin pada sel epitel (Jawetz *et al.*, 1995).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroflora normal pada usus kebanyakan hewan berdarah panas. Bakteri ini tergolong bakteri Gram-negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, kebanyakan bersifat motil (dapat bergerak) menggunakan flagela, ada yang mempunyai kapsul, dapat menghasilkan gas dari glukosa, dan dapat memfermentasi laktosa. Kebanyakan strain tidak bersifat membahayakan, tetapi ada pula yang bersifat patogen terhadap manusia, seperti *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC). *Escherichia coli* O157:H7 merupakan tipe EHEC yang terpenting dan berbahaya terkait dengan kesehatan masyarakat. *Escherichia coli* dapat masuk ke dalam tubuh manusia terutama melalui konsumsi pangan yang tercemar, misalnya daging mentah, daging yang dimasak setengah matang, susu mentah, dan cemaran fekal pada air dan pangan (Siagian, 2002).

Manifestasi klinik infeksi oleh *Escherichia coli* menurut (Jawets, 2001) bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain. Penyakit yang disebabkan oleh *Escherichia coli* yaitu :

1. Infeksi saluran kemih

Escherichia coli merupakan penyebab infeksi saluran kemih pada kira-kira 90% wanita muda. Gejala dan tanda-tandanya antara lain sering kencing, disuria, hematuria, dan piuria. Nyeri pinggang berhubungan dengan infeksi saluran kemih bagian atas.

2. Diare

Escherichia coli yang menyebabkan diare banyak ditemukan di seluruh dunia. *Escherichia coli* diklasifikasikan oleh ciri khas sifat-

sifat virulensinya, dan setiap kelompok menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda.

3. Sepsis

Bila pertahanan inang normal tidak mencukupi, *Escherichia coli* dapat memasuki aliran darah dan menyebabkan sepsis. Bayi yang baru lahir rentan sekali terhadap sepsis *Escherichia coli* karena mereka kekurangan antibody IgM. Sepsis dapat terjadi setelah infeksi sistem saluran kencing.

4. Meningitis

Escherichia coli dan *Streptokokus* adalah penyebab utama meningitis pada bayi. *Escherichia coli* merupakan penyebab pada sekitar 40% kasus meningitis neonatal.

2.2.4 Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* berdasarkan sifat karakteristik dan virulensinya.

Ada lima kelompok galur *Escherichia coli* yang patogen, menurut Jawets (2001: 358) yaitu :

a. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

EPEC penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare yang cair, yang biasanya susah diatasi namun tidak kronis.

b. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

ETEC penyebab umum diare pada musafir dan merupakan penyebab yang sangat penting dari diare pada bayi di negara berkembang. Beberapa strain ETEC memproduksi sebuah eksotoksin yang sifatnya labil terhadap panas (LT) (BM 26.000) dibawah control plasmida.

c. *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

EHEC menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksiknya pada sel Vero, suatu ginjal dari monyet hijau Afrika. EHEC banyak dihubungkan dengan *hemorrhagic colitis*, sebuah bentuk diare yang parah, dan dengan *sindroma uremic hemolytic*, sebuah penyakit akibat kegagalan ginjal akut, *microangiopathi hemolytic anemia*, dan *thrombocytopenia*.

d. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

EIEC menimbulkan penyakit yang sangat mirip dengan shigelosis. Penyakit yang paling sering pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut. Galur EIEC bersifat non-laktosa atau melakukan fermentasi laktosa dengan lambat serta bersifat tidak dapat bergerak. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus.

e. *Escherichia coli* Enteroagregatif (EAEC)

EAEC menyebabkan diare akut dan kronik (dalam jangka waktu >14 hari) pada masyarakat di negara berkembang. Patogenesis EAEC penyebab diare tidak begitu dipahami dengan baik, meskipun demikian dinyatakan bahwa EAEC melekat pada mukosa intestinal dan menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin. Akibatnya adalah kerusakan mukosa, pengeluaran sejumlah besar mukus dan terjadinya diare.

2.2.5 Gejala Klinis

Inkubasi berlangsung selama 12 jam hingga 3 hari. Gejala timbul 18-48 jam setelah menyantap makanan yang tercemar berupa nyeri dan diare, terkadang disertai oleh demam serta muntah. Beberapa faktor berperan dalam pencegahan infeksi *Escherichia coli*, seperti keasaman lambung, keutuhan flora, dan motilitas usus. Bayi yang diberikan ASI kemungkinan untuk mengalami diare akibat bakteri tersebut kecil sekali karena dalam ASI terkandung faktor pelindung (Arisman, 2012: 95)

2.2.6 Penanganan

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya keracunan makanan, antara lain adalah hygiene perorangan yang buruk, cara penanganan makanan yang tidak sehat dan perlengkapan pengolahan makanan yang tidak bersih. Salah satunya penyebabnya adalah karena kurangnya pengetahuan dalam memperhatikan kesehatan diri dan lingkungannya dalam proses pengolahan makanan yang baik dan sehat (Zulaikah, 2012; Musfirah, 2014).

Keracunan makanan yang dilatar belakangi oleh family *Escherichia coli* pada prinsipnya serupa dengan pengobatan gastroenteritis bakteri lain, terutama yang bersifat suportif, yaitu mempertahankan keseimbangan cairan dan elektrolit tubuh. Pada kasus ringan-sedang cukup diberi ORT (*Oral Rehydration Therapy*). Jika ORT tak dapat diberikan atau dehidrasi sudah berada pada tingkat yang parah, berikan cairan intravena. Obat antimotilitas tidak diperkenankan, sementara pemberian antibiotik harus menanti hasil biakan. Pengobatan sementara (*Presumptive therapy*) dengan menggunakan antibiotik tidak dianjurkan Karena potensi kejadian

HUS (Hemolytic Uremic Syndrom) yang besar, terutama jika berhadapan dengan *Escherichia coli* 015:H7.

Profilaksis traveler's diarehea dengan bismuth subsalisilat, trimetoprim dan sulfametoksazol pada anak tidak dianjurkan karena potensi akumulasi asam salisilat serta reaksi alergi. Selain itu, belum ada bukti kajian ilmiah terhadap manfaat penggunaan antibiotik untuk pengobatan EHEC dan EIEC (Arisman,2012: 96).

Menurut Sentra Informasi Keracunan Nasional, Badan POM RI. Untuk keracunan pangan yang umum, biasanya korban akan pulih setelah beberapa hari. Namun demikian ada beberapa kasus keracunan pangan yang cukup berbahaya. Korban keracunan yang mengalami muntah dan diare yang berlangsung kurang dari 24 jam biasanya dapat dirawat di rumah saja. Hal penting yang harus diperhatikan adalah mencegah terjadinya dehidrasi dengan cara segera memberikan air minum pada korban untuk mengganti cairan tubuh yang hilang karena muntah dan diare. Pada korban yang masih mengalami mual dan muntah sebaiknya tidak diberikan makanan padat. Alkohol, minuman berkafein, dan minuman yang mengandung gula juga sebaiknya dihindarkan. Untuk penanganan lebih lanjut, sebaiknya segera membawa korban ke Puskesmas atau rumah sakit terdekat. Korban keracunan yang mengalami diare dan tidak dapat minum (misalnya karena mual dan muntah) akan memerlukan cairan yang diberikan melalui intravena. Pada penanganan keracunan pangan jarang diperlukan antibiotika.

Pada beberapa kasus, pemberian antibiotika dapat memperburuk keadaan. Jika korban keracunan pangan adalah bayi, anak kecil, orang lanjut usia, wanita hamil, dan orang yang mengalami gangguan

sistem pertahanan tubuh (imun) maka perlu segera dibawa ke Puskesmas atau rumah sakit terdekat untuk mendapatkan pertolongan.

2.2.7 Pencegahan

Anak yang menderita diare akibat *Escherichia coli* serotipe 0157:H7 tidak diperbolehkan kembali berkumpul dengan teman sebaya sebelum diare membaik dan dua kultur tinja negatif. Bagi mereka yang sering bepergian ke wilayah endemis, *traveler's diarrhea* akan tercegah jika mereka tidak mengonsumsi es, selada, sayuran mentah, dan buah yang tidak kupas sendiri. Selain itu hindari minuman berkarbon dan usahakan tidak mengonsumsi daging setengah matang (Arisman, 2012: 97)

Beberapa hal sederhana dapat dilakukan untuk meminimalkan potensi terjadinya keracunan makanan menurut *World Health Organization* (WHO) mengenai 5 langkah menuju keamanan pangan dengan seksama, seperti berikut:

1. Jagalah kebersihan
2. Pisahkan bahan pangan mentah dan matang
3. Masaklah hingga matang
4. Simpanlah makanan pada suhu yang aman
5. Gunakan air bersih dan bahan pangan yang masih segar

Menurut Sentra Informasi Keracunan Nasional, Badan POM RI. Pencegahan Keracunan Pangan. Hal-hal yang dapat dilakukan untuk mencegah terjadinya keracunan pangan akibat bakteri patogen adalah:

- a. Mencuci tangan sebelum dan setelah menangani atau mengolah pangan.

- b. Mencuci tangan setelah menggunakan toilet.
- c. Mencuci dan membersihkan peralatan masak serta perlengkapan makan sebelum dan setelah digunakan.
- d. Menjaga area dapur/tempat mengolah pangan dari serangga dan hewan lainnya.
- e. Tidak meletakkan pangan matang pada wadah yang sama dengan bahan pangan mentah untuk mencegah terjadinya kontaminasi silang.
- f. Tidak mengonsumsi pangan yang telah kadaluarsa atau pangan dalam kaleng yang kalengnya telah rusak atau menggelembung.
- g. Tidak mengonsumsi pangan yang telah berbau dan rasanya tidak enak.
- h. Mengonsumsi air yang telah dididihkan.
- i. Memasak pangan sampai matang sempurna agar sebagian besar bakteri dapat terbunuh. Proses pemanasan harus dilakukan sampai suhu di bagian pusat pangan mencapai suhu aman ($>70^{\circ}\text{C}$) selama minimal 20 menit.
- j. Menyimpan segera semua pangan yang cepat rusak dalam lemari pendingin (sebaiknya suhu penyimpanan di bawah 5°C).
- k. Tidak membiarkan pangan matang pada suhu ruang lebih dari 2 jam, karena mikroba dapat berkembang biak dengan cepat pada suhu ruang.
- l. Menyimpan produk pangan yang harus disimpan dingin, seperti susu pasteurisasi, keju, sosis, dan sari buah dalam lemari pendingin.

2.3 Higieni dan sanitasi

Higieni adalah upaya kesehatan dengan cara memelihara dan melindungi kebersihan individu subyeknya seperti mencuci tangan dengan air bersih dan sabun untuk melindungi kebersihan tangan, mencuci piring untuk melindungi kebersihan piring, membuang bagian makanan secara keseluruhan (Depkes RI 2004).

Sanitasi adalah upaya kesehatan dengan cara memelihara kesehatan lingkungan dari subyeknya seperti menyediakan air yang bersih untuk keperluan mencuci, menyediakan tempat sampah untuk mewedahi sampah agar sampah tidak dibuang sembarangan (Depkes RI 2004).

Di dalam upaya sanitasi makanan ini, terdapat beberapa tahap yang harus diperhatikan sebagai berikut :

1. Keamanan dan kebersihan produk makanan yang diproduksi
2. Kebersihan individu dalam pengolahan produk makanan
3. Keamanan terhadap penyediaan air.
4. Pengelolaan pembuangan air limbah dan kotoran.
5. Perlindungan makanan terhadap kontaminasi selama pengelolaan, penyajian, dan penyimpanan
6. Pencucian dan pembersihan alat perlengkapan.

(Chandra, 2007 : 86)

2.4 Kontaminasi Mikroba pada makanan dan minuman

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. *Escherichia coli* yang terdapat pada makanan atau minuman yang masuk ke dalam tubuh manusia dapat menyebabkan gejala seperti kholera, disentri, gastroenteritis, diare dan berbagai penyakit saluran pencernaan lainnya (Nurwanto, 2007).

Perkembangbiakan bakteri dalam makanan ditentukan oleh keadaan lingkungan serta temperatur yang cocok, selain ketersediaan zat gizi sebagai sumber makanan. Makanan yang bersih ialah makanan yang tidak terkontaminasi oleh kotoran dan tidak menampakkan tanda pembusukan oleh bakteri. Kontaminasi silang merupakan konsep keamanan makanan yang sangat penting. Keadaan ini terjadi jika zat pencemar berpindah-pindah dari satu makanan ke makanan lain melalui permukaan benda selain makanan, misalnya alat yang digunakan untuk memasak dan tangan manusia (Arisman, 2012:6)

Menurut Soemirat (2004), syarat air minum ialah harus aman diminum artinya bebas mikroba patogen dan zat berbahaya dan diterima dari segi warna, rasa, bau dan kekeruhannya. Ketersediaan air bersih semakin berkurang seiring dengan perkembangan pertumbuhan penduduk. Pertumbuhan penduduk yang semakin padat menyebabkan rendahnya kemampuan tanah untuk menyerap air karena perubahan tata guna tanah yang tidak terkendali sebagai dampak kepadatan penduduk. Faktor kontaminasi bakteri pada makanan dan minuman bisa melalui pengolahan yang kurang higienis, mulai dari air yang digunakan serta bahan pembuatan yang kurang bersih, sanitasi di sekitar lingkungan yang kotor, tempat wadah pengolahan dan cara pengemasannya serta penyimpanan.

Faktor pendukung perkembangbiakan bakteri *Escherichia coli* dalam makanan. Perkembangbiakan bakteri dalam makanan ditentukan oleh keadaan lingkungan serta temperatur yang cocok, selain ketersediaan zat

gizi sebagai sumber makanan. Satu sel bakteri yang hidup dalam lingkungan yang sesuai, misalnya dalam waktu 20-30 menit, akan membelah diri sehingga menurut perhitungan laboratories, dalam waktu 7 jam jumlah bakteri akan bertambah menjadi 2 juta. Laju pertumbuhan bakteri bukan hanya tergantung pada faktor waktu. terdapat juga faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik menguraikan parameter yang khas untuk bahan makanan tersebut (pH, kelembaban) sementara faktor ekstrinsik (pemrosesan, penyimpanan, kemasan (Arisman, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Andrian G. Bambang, Fatimawali, dan Novel, S. Kojong, 2014 pada 9 sampel air minum isi ulang di kota Manado. Cemaran mikroba pada semua sampel air minum isi ulang tidak memenuhi standar setelah melalui pengujian Angka Lempeng Total (ALT), karena melebihi batas cemaran mikroba menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 01-3553 tahun 2006 yaitu $1,0 \times 10^2$ koloni/mL. Penelitian lain yang dilakukan oleh Sitrait, 2009 bahwa susu kedelai yang dijual pedagang kaki lima di kota Medan dari 10 sampel susu kedelai yang diperiksa, terdapat 6 sampel yang memenuhi syarat kesehatan, yaitu tidak mengandung bakteri *Escherichia coli* dan terdapat 4 sampel yang tidak memenuhi syarat kesehatan, sampel tersebut mengandung bakteri *Escherichia coli* dalam 100 ml.

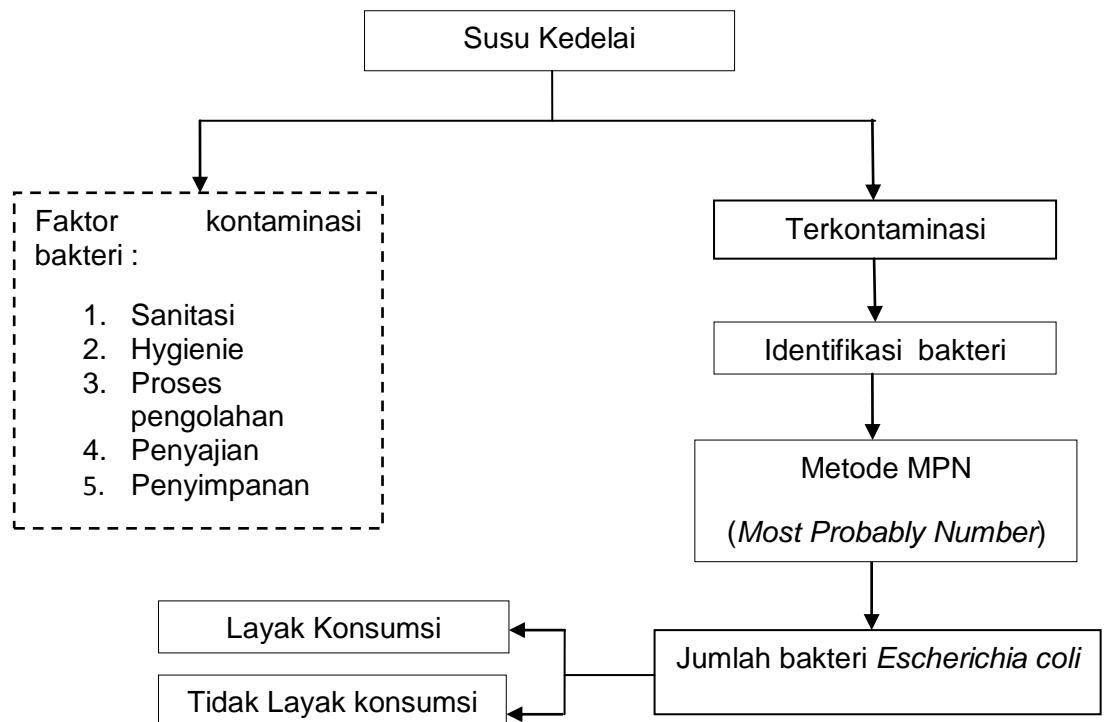
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka Konsep

Kerangka konsep adalah suatu uraian dan visualisasi hubungan atau kaitan antara konsep satu terhadap konsep lainnya, atau antara variabel yang satu dengan variabel yang lain dari masalah yang ingin diteliti (Notoatmodjo, 2010: 83).

Kerangka konseptual dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 3.1 sebagai berikut:



Keterangan kerangka konseptual :

: variabel yang diteliti

: variabel yang tidak diteliti

Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito

3.2. Penjelasan Kerangka Konsep

Berdasarkan kerangka konsep di atas dapat dijelaskan bahwa ada beberapa faktor yang mempengaruhi susu kedelai terkontaminasi oleh bakteri yaitu sanitasi, higiene, proses pengolahan, penyajian dan penyimpanan. Susu kedelai yang terkontaminasi oleh bakteri, dilakukan identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai dengan menggunakan metode MPN Untuk mengetahui bahwa susu kedelai tersebut layak dikonsumsi atau tidak.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Waktu dan Tempat Penelitian

4.1.1. Waktu Penelitian

Penelitian ini mulai dilaksanakan dari perencanaan (penyusunan proposal) bulan Januari 2016 sampai dengan penyusunan laporan akhir bulan Juni 2016.

4.1.2. Tempat Penelitian

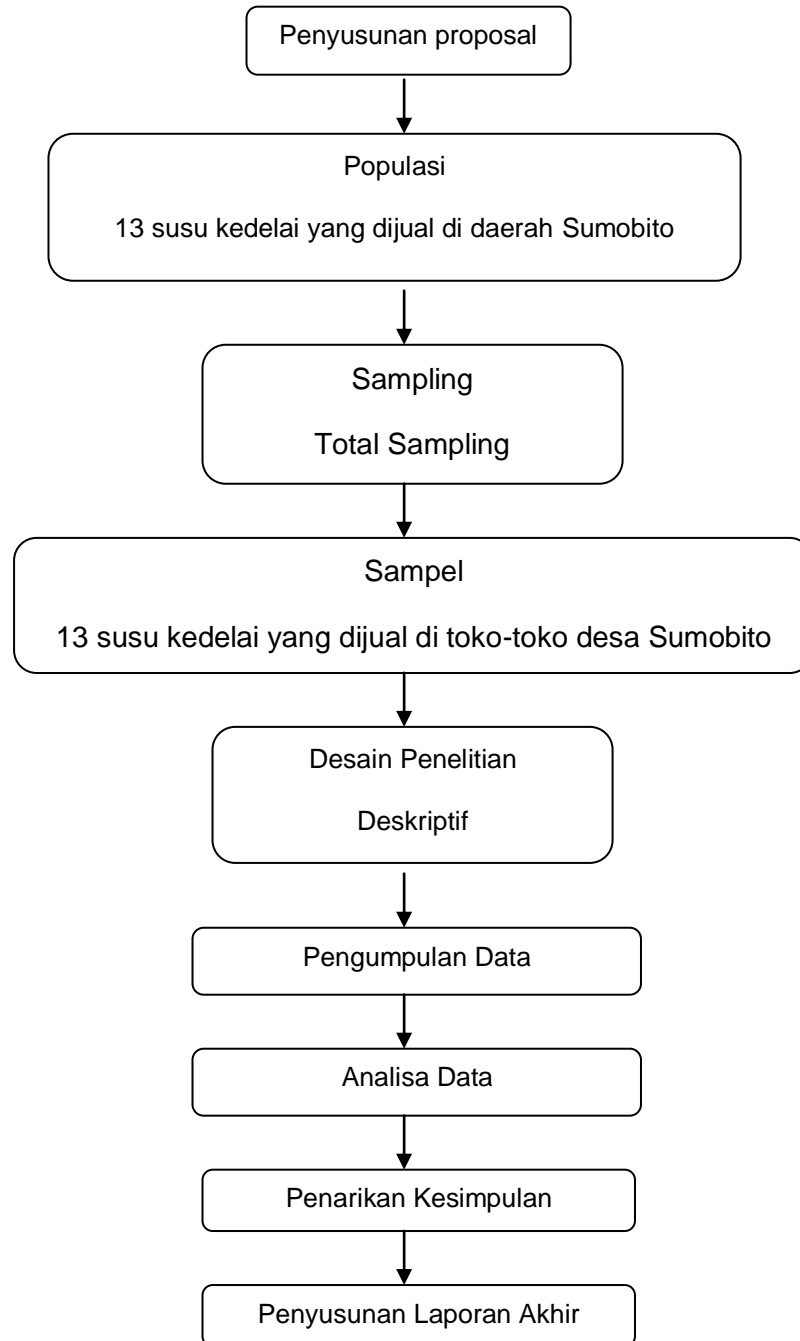
Lokasi penelitian akan dilakukan di toko-toko desa Sumobito Jombang. Pemeriksaan sampel dilakukan di ruang Laboratorium Bakteriologi D3 Analisis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang.

4.2. Rancangan Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian, desain penelitian yang digunakan bersifat deskriptif yaitu penelitian yang dimaksudkan untuk menyelidiki keadaan, kondisi atau hal lain-lain yang sudah disebutkan, yang hasilnya dipaparkan dalam bentuk laporan penelitian (Arikunto 2010:3).

4.3 Kerangka Kerja (*Frame Work*)

Kerangka kerja penelitian tentang identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai tertera sebagai berikut :



Gambar 4.3 Kerangka Kerja Penelitian Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito Jombang

4.4 Populasi, Sampel dan Sampling

4.4.1 Populasi

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian (Notoatmodjo 2005: 79). Dalam penelitian ini populasi yang digunakan adalah semua penjual susu kedelai di daerah Sumobito Jombang sejumlah 13 toko.

4.4.2 Sampling

Sampling adalah cara atau teknik-teknik tertentu, sehingga sampel tersebut sedapat mungkin mewakili populasinya (Notoatmodjo 2005:79). Pada penelitian ini, teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah Total Sampling. Menurut Sugiyono (2011), total sampling adalah teknik penentuan sampel bila semua anggota populasi digunakan sebagai sampel.

4.4.3 Sampel

Sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti (Arikunto, 2012: 174). Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah total sampling yaitu seluruh jumlah populasi diambil sebagai sampel. Karena menurut Hidayat (2010) jika populasi <30 maka diambil semuanya sebagai sampel yaitu berjumlah 13 susu kedelai yang dijual di toko Desa Sumobito.

4.5 Definisi Operasional Variabel

4.5.1 Variabel

Variabel adalah objek penelitian yang bervariasi atau apa yang menjadi titik perhatian suatu penelitian (Arikunto 2010, h. 159). Adapun variabel dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli* pada Susu Kedelai.

4.5.2 Definisi Operasional

Definisi operasional merupakan uraian tentang batasan variabel yang dimaksud, atau tentang apa yang diukur oleh variabel yang bersangkutan (Notoatmodjo 2010, h. 112). Adapun definisi operasional penelitian ini adalah sebagai berikut:

Tabel 4.6.2 Definisi Oprasional Variabel Penelitian

| Variabel | Definisi operasional | Parameter | Kriteria | Alat ukur |
|---|---|----------------------|--|-----------|
| Bakteri <i>Escherichia coli</i> pada susu kedelai | Bakteri <i>Escherichia coli</i> adalah bakteri gram negatif (-) yang berbentuk bacil atau batang, bakteri tumbuh pada media EMB (Eosin Methylene Blue) dengan koloni hijau kilap logam dengan inti berwarna gelap bintik biru kehijauan | Sesuai SNI 3830-1995 | Sesuai SNI, <i>Escherichia coli</i> <3 APM/ml Tidak sesuai SNI, <i>Escherichia coli</i> >3 APM/ml | Tabel MPN |

4.6 Instrumen Penelitian dan Cara penelitian

4.6.1 Instrumen Penelitian

Peralatan yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai sebagai berikut:

Peralatan :

1. Autoclave
2. Inkubator
3. Labu Erlenmeyer
4. Rak tabung reaksi
5. Tabung reaksi

6. Pipet steril
7. Ose
8. Tabung durham
9. Lampu spirtus
10. Kaki tiga
11. Kasa
12. Cawan petri
13. Kapas Steril

4.6.2 Bahan

1. Susu kedelai
2. Aquades Steril
3. Brilliant Green Lactose Bile Borth 2 %(BGLB)
4. Lactose Broth
5. Eosin methylen blue (EMB)

4.6.3 Prosedur

A. Pembuatan media

1. Media Lactose broth

Komposisi : Peptone 5 gr

Beef ekstrak 3 gr

Laktosa 5 gr

- a. Menimbang media LB sebanyak 13 g dan dilarutkan dalam 500 ml aquades.
- b. Melarutkan kedalam erlenmeyer, lalu digojok sampai larut
- c. Memipet masing-masing 10 ml di dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham.
- d. Menutupi tabung reaksi dengan kapas

- e. Media disterilkan pada autoclave pada suhu 121°C selama kurang lebih 15 menit

2. Media EMB

Komposisi : Peptone: 10.0 g/L

Lactose: 10.0 g/L

Dipotassium hydrogen phosphate: 2.0 g/L

Eosin : 0.4 g/L

Methylene blue : 0.065 g/L

Agar : 15.0 g/L

- a. Menimbang 3,6 gram EMB dan dilarutkan dalam aquades 100 ml sampai rata.
- b. Panaskan hingga larut sempurna dan sampai mendidih
- c. Diukur dengan PH \pm 7,2. Jika kelebihan maka ditambah dengan HCl dan bila kekurangan maka ditambah dengan NaOH.
- d. Sterilkan dalam autoclave 121°C selama 15 menit.
- e. Kemudian dituang dalam petridisk atau cawan petri.

3. Media BGLB

Komposisi : BGLB 2% (Brilliant Green Lactose Bile Broth)

Pepton 10 g

Ochsenyalle 20 g

Lactose 10 g

Brilliant gom 0,0137 g

- a. Menimbang 20 g BGLB dalam Erlenmeyer 500 mL
- b. Dilarutkan dengan aquadest
- c. Dicukupkan volumenya sampai 500 mL

- d. Dihomogenkan hingga larut
- e. Dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit
- f. Didinginkan dan disimpan dalam lemari pendingin.

4. Media TSIA

Komposisi : Lab-Lemco powder 3,0 gr

Yeast extract 3,0 gr

Peptone 20,0 gr

Sodium Chloride 5,0 gr

Lactose 10,0 gr

Sucrose 10,0 gr

Glucose 10,0 gr

Ferri Citrace 0,3 gr

Sodium thiosulphate 0,3 gr

Phenol red 0,5 gr

Agar

- a. Timbang 65 gr media TSIA masukkan dalam erlenmeyer dan tambahkan aquadest 1000 ml
- b. Panaskan hingga larut
- c. Cek Ph media 7,6
- d. Setelah larut masukkan dalam tabung reaksi berukuran kecil
- e. Tutup dengan kapas, lalu disterilkan dalam autoclave pada suhu 120°C selama 1 jam
- f. Setelah steril, miringkan tabung yang berisi media sehingga terbentuk lereng dan dasar media.

B. Cara Kerja

a) Uji pendugaan (presumptive test)

1. Menyiapkan 5 tabung reaksi yang berisi 10 ml media Lactose broth dan tabung durham terbalik.
2. Memipet 10 ml sampel ke dalam 5 tabung pertama yang berisi media 10 ml media Lactose broth.
3. Melakukan juga dengan cara yang sama memipet 1 ml sampel pada 5 tabung kedua yang berisi 5 ml media Lactose broth dan memipet 0,1 ml sampel pada 5 tabung ketiga yang berisi 5 ml media Lactose broth.
4. Menyimpan semua tabung dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam dan 48 jam.
5. Setelah 24 jam dicatat jumlah yang membentuk gas pada masing-masing pengenceran dan simpan lagi tabung yang tidak membentuk gas dalam inkubator selama 24 jam. Kemudian dicatat jumlah tabung yang membentuk gas.

b) Uji penegasan (Confirmed test)

1. Menyiapkan 15 tabung yang berisi 10 ml medium Brilliant Green Lactose Broth yang berisi durham terbalik.
2. Memindahkan 1 mata ose dari tiap tabung yang membentuk gas ke medium Brilliant Green Lactose Broth pada 5 tabung pertama dan seterusnya.
3. Memasukkan semua tabung ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Adanya gas pada tabung Brilliant Green Lactose Broth 2% (BGLB) memperkuat adanya bakteri *Escherichia coli* dalam sampel.

4. Mencatat jumlah tabung yang positif membentuk gas, dari pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dapat diperkirakan jumlah kuman pada tabel Mc.Crady.

c) Uji kepastian (completed test)

1. Melakukan penanaman atau inokulasi sampel pada medium Eosin Methylen Blue (EMB) dengan arah zig-zag.
2. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam atau 2x24 jam, diamati koloni bakteri yang tumbuh.
3. Koloni hijau kilap logam dengan inti berwarna gelap bintik biru kehijauan adalah *Escherichia coli*.
4. Jika pada media EMB terdapat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* maka dilakukan inokulasi pada media TSIA.
5. Diambil koloni bakteri dari media EMB menggunakan ose kemudian tanam pada media TSIA dengan melakukan streak pada media lereng media dan tusuk media sampai dasar.
6. Kemudian di inkubasi pada inkubator pada suhu 44°C selama 24-48 jam.
7. Pada media TSIA hasil positif *Escherichia coli* di dapat hasil

Lereng : Acid

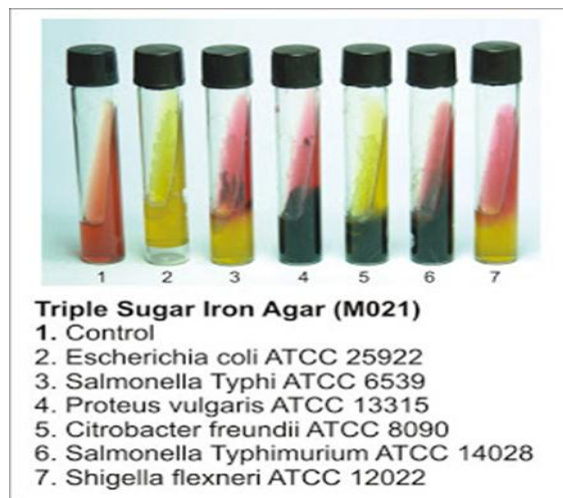
Dasar : Acid

Gas : Positif

H₂S : Negatif

Tabel 4.6 Pertumbuhan koloni bakteri coliform pada media EMB

| <i>Klebsiella</i> | <i>Escherichia coli</i> | <i>Enterobacter</i> |
|---|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> • Pertumbuhan baik, • koloni berwarna ungu, tidak mengkilap. | <ul style="list-style-type: none"> • Pertumbuhan baik, • koloni berwarna hijau metalik mengkilap. | <ul style="list-style-type: none"> • Pertumbuhan baik, • Koloni terbentuk tebal, mukoid, koloni berwarna pink |

Gambar 4.6 Pertumbuhan bakteri pada media TSIA
(Sumber :<http://desijumanti.blogspot.co.id>)

4.7 Teknik Pengolahan dan Analisa Data

4.7.1 Pengolahan Data

Setelah data terkumpul, maka dilakukan pengolahan data melalui tahapan *Editing*, *Coding*, dan *Tabulating*

1. *Editing*

Editing adalah upaya untuk memeriksa kembali kebenaran data yang diperoleh atau dikumpulkan (Hidayat, 2007:121). Dalam *editing* ini akan diteliti :

- A) Lengkapnya sampel
- B) Perlakuan yang sama pada semua sampel

C) Keseragaman data

2. *Coding*

Coding merupakan kegiatan pemberian kode numerik (angka) terhadap data yang terdiri atas beberapa katagori (Hidayat 2007: 121). Dalam Penelitian ini pengkodean sebagai berikut :

1) Sampel

| | |
|-------------|---------|
| Sampel no.1 | kode S1 |
| Sampel no.2 | kode S2 |
| Sampel no.3 | kode Sn |

2) Variabel *Escherichia coli*

| | |
|---------|---------|
| Positif | Kode + |
| Negatif | Kode –. |

3. *Tabulating*

Tabulating yakni membuat tabel-tabel data, sesuai dengan tujuan penelitian atau yang diinginkan oleh peneliti (Notoatmodjo, 2007: 176). Data yang telah diperoleh dari hasil pemeriksaan terhadap sampel dimasukkan ke dalam tabel-tabel. Sesuai dengan jenis variabel yang diolah.

4.7.2 Analisa Data

Prosedur analisa data merupakan proses memilih dari beberapa sumber maupun permasalahan yang sesuai dengan penelitian yang dilakukan (Notoatmojo, 2010:180). Analisa data dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$P = \frac{f}{n} \times 100\%$$

Keterangan :

P : presentase

f : Jumlah sampel yang positif terinfeksi bakteri *Escherichia coli*

n : Jumlah seluruh sampel yang diteliti

Setelah diketahui hasil persentase dari perhitungan kemudian ditafsirkan dengan kriteria sebagai berikut :

- a. 1% - 39% : sebagian kecil
- b. 40% - 49% : hampir setengah
- c. 50% : setengah
- d. 51% - 75% : sebagian besar
- e. 76% - 99% : pada umumnya
- f. 100% : keseluruhan (Arikunto,2010)

4.8 Etika Penelitian

Dalam penelitian ini mengajukan permohonan pada instansi terkait untuk mendapatkan persetujuan, setelah disetujui dilakukan pengambilan data, dengan menggunakan etika sebagai berikut :

1. *Informed Consent* (Lembar persetujuan)

Informed Consent diberikan sebelum penelitian dilakukan pada objek yang berada pada lokasi yang terkait dengan maksud penelitian.

2. *Anonymity* (Tanpa nama)

Identitas objek penelitian ditulis secara inisial untuk menjamin kerahasiaan identitas objek.

3. *Confidentiality* (Kerahasiaan)

Kerahasiaan informasi yang diperoleh dari objek akan dijamin *kerahasiaan* oleh peneliti. Penyajian data atau hasil penelitian hanya ditampilkan pada forum Akademis.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini akan dibahas mengenai hasil penelitian sebagai tindak lanjut pelaksanaan penelitian yang berjudul “Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito Jombang”. Penelitian ini dilaksanakan di toko-toko yang menjual susu kedelai di desa Sumobito pada Januari-Juni 2016. Pengumpulan data yang diambil bulan Mei dengan jumlah susu kedelai yang berbeda sebanyak 13 susu kedelai.

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Gambaran lokasi penelitian

Pada pelaksanaan penelitian ini dilakukan di daerah Kecamatan Sumobito Kabupaten Jombang yang memiliki luas wilayah 4.584,132 m². Secara administrasi Kecamatan Sumobito terdiri dari 21 desa. Salah satunya adalah desa Sumobito yang dijadikan tempat penelitian.

Batas-batas wilayah Desa Sumobito

- Sebelah Utara : Desa Talun Kidul
- Sebelah Selatan : Desa Kedungpapar
- Sebelah Timur : Desa Curahmalang
- Sebelah Barat : Desa Segodorejo

Desa Sumobito terdiri dari 8 dusun yang dijadikan penelitian. Alasan memilih desa Sumobito untuk dijadikan penelitian, karena ada beberapa produksi rumah tangga yang memproduksi susu kedelai. Pengambilan sampel dilakukan di toko-toko desa Sumobito yang menjual susu kedelai.

5.1.2 Data Umum

Karakteristik sampel susu kedelai berdasarkan kekeruhan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu putih keruh dan tidak keruh.

Tabel 5.1 Karakteristik Susu Kedelai Berdasarkan Spesifikasi Kekeruhan yang Dijual di Toko-toko Desa Sumobito Jombang.

| Kekeruhan | Frekuensi | Persentase (%) |
|-------------|-----------|----------------|
| Tidak keruh | 9 | 69,23 |
| keruh | 4 | 30,77 |
| Jumlah | 13 | 100 |

Berdasarkan Tabel 5.1 tentang spesifikasi kekeruhan susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito Jombang didapatkan sebagian besar (69,23%) susu kedelai tidak keruh.

5.1.3 Data Khusus

Dari Hasil pemeriksaan 13 sampel susu kedelai terhadap bakteri *Escherichia coli* yang dilakukan di ruang Laboratorium Mikrobiologi D3 Analisis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Insan Cendekia Medika Jombang dapat diketahui sebagai berikut :

Tabel 5.2 Distribusi Frekuensi Hasil Pemeriksaan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Susu Kedelai yang Dijual di Toko-toko Desa Sumobito Jombang Mei 2016.

| No | Identifikasi | Frekuensi | Persentase (%) |
|----|--------------|-----------|----------------|
| 1 | Positif | 8 | 61,54 |
| 2 | Negatif | 5 | 38,46 |
| | Total | 13 | 100 |

Hasil pemeriksaan identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito Jombang diketahui bahwa sebagian besar sampel susu kedelai positif mengandung bakteri *Escherichia coli* yaitu 8 sampel (61,54%). Sedangkan yang negatif yaitu 5 sampel (38,54%), tetapi dalam sampel yang negatif *Escherichia coli* ini terdapat bakteri lain yaitu *Proteus*.

5.2 Pembahasan

Berdasarkan Tabel 5.2 dari tiga belas sampel didapatkan 8 sampel (61,54%) positif tercemar *Escherichia coli* dan 5 sampel (38,46%) negatif *Escherichia coli*. Menurut SNI 3830-1995 bahwa syarat mutu kualitas susu kedelai minimal terdapat bakteri *Escherichia coli* <3 APM/ml.

Pada penelitian ini selain ditemukan bakteri *Escherichia coli* juga ditemukan bakteri lain yang mencemari susu kedelai. Diantara 5 sampel yang negatif bakteri *Escherichia coli*, terdapat bakteri lain dalam salah satu sampel yaitu bakteri *Proteus*. Keberadaan bakteri *Proteus* pada susu kedelai ditandai dengan adanya hasil pada media TSI menunjukkan pada lereng media bersifat alkali (merah), dasar bersifat asam (kuning), H₂S (+), dan terdapat gas (+) berwarna hitam pada bagian dasar media.

Hasil positif bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai dapat dilihat dari pemeriksaan yang dilakukan di media LB dan BGLB akan menunjukkan adanya gelembung gas pada tabung durham. Pada media EMB, koloni bakteri *Escherichia coli* berwarna hijau metalik. Sedangkan pada media TSI, bakteri *Escherichia coli* bersifat asam, berwarna kuning, terdapat seperti pecahan kaca.

Susu kedelai merupakan minuman nabati yang diperoleh dari sari kedelai yang mempunyai banyak manfaat. Selain harganya yang murah dan

menjangkau semua lapisan masyarakat, susu kedelai juga memiliki gizi yang tinggi yang tidak kalah dengan susu sapi. Kurangnya pengetahuan para produksi susu kedelai tentang pentingnya menjaga kebersihan menimbulkan terjadinya pencemaran mikrobiologi patogen terhadap minuman yang dijual.

Keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada minuman yang masuk ke dalam tubuh manusia dapat menyebabkan gejala seperti kholera, disentri, gastroenteritis, diare dan berbagai penyakit saluran pencernaan lainnya (Nurwanto, 2007).

Menurut peneliti, hasil positif yang didapat dikarenakan air yang digunakan dalam proses pengolahan susu kedelai sudah mengalami pencemaran, alat yang digunakan kurang bersih, serta sumber daya manusianya yang kurang menjaga kebersihan. Hal-hal inilah yang menyebabkan susu kedelai tercemar oleh bakteri *Escherichia coli* dan tidak memenuhi syarat kualitas susu kedelai yang telah ditetapkan.

Berdasarkan teori menyebutkan bahwa pada tahap pengolahan makanan besar kemungkinan terjadinya kontaminasi makanan disebabkan oleh faktor fisik, kimia dan biologi. Pada saat pengolahan makanan perlu diperhatikan penggunaan perlengkapan dan peralatan masak seperti pada saat meracik makanan sebaiknya menggunakan meja khusus yang kuat dan tahan goresan agar sisa-sisa pengolahan makanan tidak menempel pada meja dan mencemari makanan yang telah diolah. Pada saat mencicipi makanan sebaiknya menggunakan alat yang bersih sehingga makanan tidak terkontaminasi oleh kuman yang mungkin ada ditangan (Depkes, 2006).

Pada penelitian sebelumnya mengenai higiene sanitasi pengolahan susu kedelai yang berada di kota Medan, didapatkan hasil dari 10 sampel susu kedelai yang diperiksa terdapat 4 sampel yang tidak

memenuhi syarat dan mengandung bakteri *Escherichia coli* (Sirait, 2009). Faktor utama yang mempengaruhi kontaminasi *Escherichia coli* pada makanan adalah higiene dan sanitasi. Faktor higiene meliputi beberapa aspek seperti kebersihan tubuh penjamah serta perilaku penjamah selama mengolah makanan. Sedangkan sanitasi mencakup fasilitas sanitasi, manajemen limbah dan sanitasi peralatan (Depkes, 2006).

Kontaminasi bakteri *Escherichia coli* terhadap susu kedelai dapat dicegah apabila para produksi susu kedelai lebih memperhatikan lagi kebersihan peralatan yang digunakan. Terutama air yang menjadi bahan baku paling penting harus menggunakan air yang bersih. Sehingga dengan begitu akan meminimalkan tercemarnya bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai. Keracunan makanan dan minuman yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* enteropatogenik biasanya disebabkan oleh konsumsi air atau makanan yang terkontaminasi oleh *Escherichia coli*. Karena itu keberadaannya pada minuman tidak diinginkan. Identifikasi *Escherichia coli* ini dilakukan pada sampel susu kedelai dan mengacu pada pustaka syarat menurut SNI 3830-1995 yang mensyaratkan cemaran bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yaitu *Escherichia coli* <3 APM/ml.

Keberadaan *Escherichia coli* pada air merupakan indikator bahwa air tersebut telah tercemar oleh kotoran manusia atau hewan dan tidak menutup kemungkinan akan ditemukan jenis bakteri patogen lain (Sanjaya, 2012). Karena air salah satu bahan dalam pengolahan pembuatan susu kedelai. Air digunakan untuk pencucian kedelai, peralatan maupun untuk perebusan hingga menghasilkan sari kedelai. Meningkatnya bakteri *Escherichia coli* dalam susu kedelai, jika sampai dikonsumsi oleh masyarakat bisa mengakibatkan bakteri flora normal dalam sistem pencernaan ini melebihi

ambang batas. Sehingga mampu menyebabkan konsumen mengalami gangguan sistem pencernaan.

Susu kedelai yang rusak ditandai dengan berubahnya bau, warna, rasa, atau mengental, kemudian terjadi pemisahan air dengan endapan sari kedelai (Cahyadi, 2007). Makanan penting baik untuk pertumbuhan maupun untuk mempertahankan kehidupan. Makanan memberikan energi dan bahan-bahan yang diperlukan untuk membangun dan mengganti jaringan, untuk bekerja, dan untuk memelihara pertahanan terhadap penyakit (Adams dan Motoarjemi, 2003).

Minuman susu kedelai membawa manfaat bagi tubuh, bila dalam pengolahannya tidak tercemar oleh bakteri. Susu kedelai yang rusak ditandai dengan berubahnya bau, warna, rasa, atau mengental, kemudian terjadi pemisahan air dengan endapan sari kedelai (Cahyadi, 2007).

Escherichia coli yaitu bakteri *facultatively anaerobic gram negative* berbentuk batang yang termasuk dalam *Enterobacteriaceae*, sesungguhnya merupakan penghuni normal usus, selain berkembang biak di lingkungan sekitar manusia. Bakteri ini dikenal bersifat komensal maupun berpotensi patogen. Beberapa faktor berperan dalam pencegahan infeksi *Escherichia coli*, seperti keasaman lambung, keutuhan flora, dan motilitas usus (Arisman, 2002: 95).

Dalam penelitian ini juga ditemukan bakteri lain yaitu *Proteus* dalam susu kedelai. Bakteri *Proteus* menyebabkan infeksi pada manusia ketika bakteri meninggalkan saluran usus. Mereka ditemukan dalam infeksi sistem saluran kencing dan menyebabkan bakteremia, pnemonia, lesi lokal dan infeksi lainnya. Spesies *Proteus* memproduksi urease, menghidrolisis urea dengan membebaskan amonia (Jawets, 2001: 358).

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* pada susu kedelai yang dijual di toko-toko desa Sumobito Jombang didapatkan sebagian besar susu kedelai mengandung bakteri *Escherichia coli*.

6.2 Saran

1. Bagi peneliti selanjutnya

Diharapkan dapat mengembangkan penelitian lainnya yang lebih mendalam tentang uji MPN *Escherichia coli* pada susu kedelai.

2. Bagi Masyarakat

Disarankan untuk lebih berhati-hati dalam membeli susu kedelai, karena dikhawatirkan terkena gangguan kesehatan.

3. Bagi Dinas Kesehatan

Melakukan penyuluhan pada produsen susu kedelai, Agar lebih memperhatikan lagi higienitas dalam proses pengolahan susu kedelai.

4. Bagi produsen

Lebih meningkatkan kebersihan diri maupun peralatan serta bahan yang digunakan dalam pengolahan susu kedelai.

Lampiran 1

LEMBAR KONSULTASI

Nama : Nor Alfiyah

NIM : 131310066

Judul : Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Susu Kedelai Yang
dijual di toko Daerah Sumobito Jombang

| No | Tanggal | Hasil Konsultasi |
|----|------------------|--|
| 1 | 18 Januari 2016 | Judul Proposal KTI |
| 2 | 19 Januari 2016 | Konsultasi BAB 1 |
| 3 | 20 Januari 2016 | Pokok Permasalahan lebih dipertajam |
| 4 | 30 Januari 2016 | Sistematika Penulisan dan Isi Pendahuluan |
| 5 | 07 Februari 2016 | Penulisan dan Konteks bab 1 |
| | | Konteks bab 2 |
| 6 | 20 Februari 2016 | Susunan Kajian Pustaka,tabel,gambar |
| | | penulisan daftar pustaka |
| 7 | 08 Maret 2016 | Penulisan bab 2 , bab 3 ,Sumber Literatur |
| 8 | 04 April 2016 | Struktur bab 4 Sesuaikan dengan buku pedoman |
| 9 | 19 April 2016 | Sidang Proposal |
| 10 | 20 Juni 2016 | Abstrak dan Pembahasan |
| 11 | 21 Juli 2016 | Data (tabel 3.2), Pembahasan, dan foto |
| 12 | 25 Juli 2016 | Data dan Pembahasan |
| 13 | 27 Juli 2016 | Acc Ujian |

Mengetahui,

Pembimbing Utama

Ali Maududi, Spd.,Mkes

LEMBAR KONSULTASI

Nama : Nor Alfiyah
 NIM : 131310066
 Judul : Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Susu Kedelai Yang dijual di toko Daerah Sumobito Jombang

| No | Tanggal | Hasil Konsultasi |
|----|-----------------|---|
| 1 | 11 Januari 2016 | Pembahasan Bab 1 |
| 2 | 05 Maret 2016 | Acc Bab 1 |
| 3 | 08 Maret 2016 | Siapkan Bab II-IV |
| 4 | 15 Maret 2016 | Revisi Bab II, Tata Cara Penulisan EYD |
| 5 | 20 Maret 2016 | Acc Bab II, Revisi Bab III |
| 6 | 25 Maret 2016 | Acc Bab III, |
| 7 | 04 April 2016 | Revisi Bab IV |
| 8 | 10 April 2016 | Acc Bab IV dan daftar pustaka |
| 9 | 05 Mei 2016 | Siapkan Kelengkapan Proposal |
| 10 | 18 Juni 2016 | Revisi bab V dan VI |
| 11 | 20 Juni 2016 | Penulisan bab V dan VI |
| 12 | 19 Juli 2016 | Abstrak , hasil dilampirkan, referensi Teori |
| 13 | 20 Juli 2016 | Abstrak dengan kalimat baku, pembahasan + proteus |
| 14 | 23 Juli 2016 | Acc sidang hasil |

Mengetahui,
 Pembimbing Anggota

Sri Lestari, SKM

Lampiran 2

ALAT DAN BAHAN



1. Inkubator



2. Neraca Digital



3. Hot Plate



4. Autoclav



5. Enkas



ttg 6. Tabung Reaksi



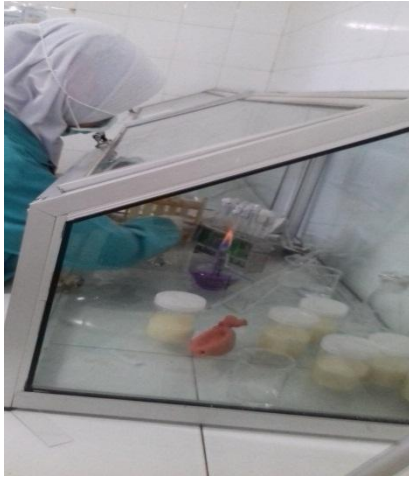
7. Susu Kedelai



8. Media

Lampiran 4

PROSEDUR PEMERIKSAAN



1. Menyiapkan alat dan bahan dalam inkubator



2. Memipet sampel dimasukkan pada Media LB



3. Diinkubasi selama 24 jam



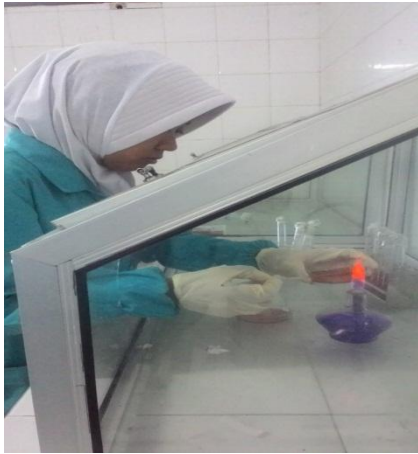
4. Terdapat gelembung gas pada Tabung durham



5. Penanaman media LB



6. Penanaman media EMB



7. Penanaman di media TSI dari media EMB



8. Pembuatan preparat



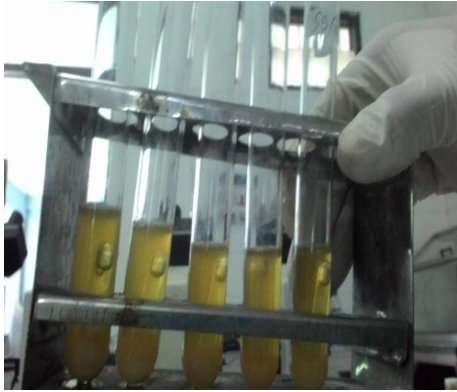
9. Pengecatan gram



10. Pemeriksaan Mikroskopis

Lampiran 5

HASIL PEMERIKSAAN



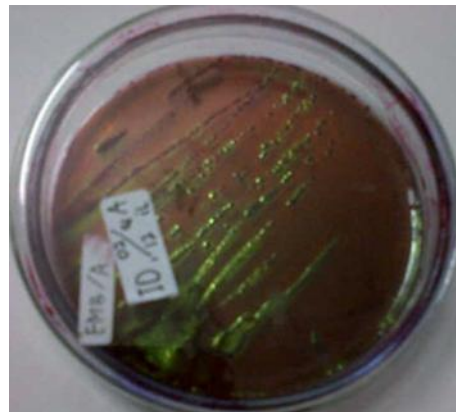
Hasil positif di media LB terdapat Gelembung gas pada tabung durham



Hasil positif di media BGLB Terdapat gelembung gas pada tabung durham



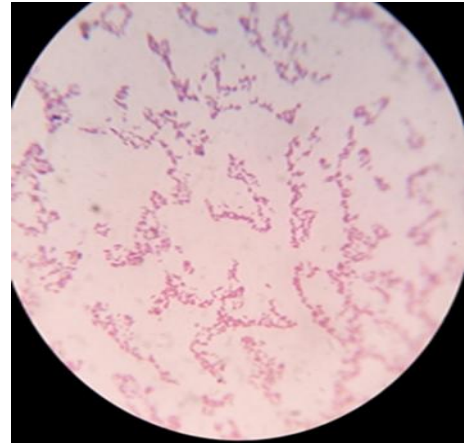
Positif *E. coli* terdapat gelembung Gas pada tabung durham



Positif *E. coli* pada media EMB terdapat koloni berwarna hijau metalik



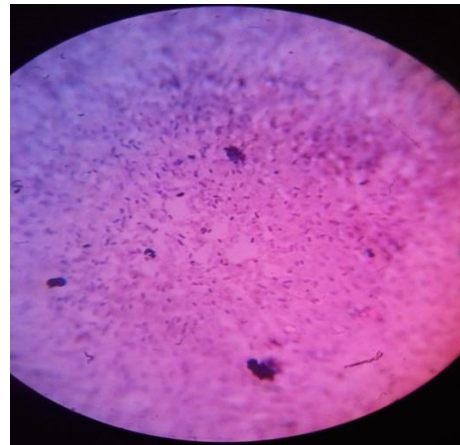
Positif *E.coli* di media TSI bersifat asam,
Terdapat seperti pecahan kaca



pemeriksaan mikroskopis
positif *E. coli*,bersifat gram
Negatif berbentuk batang.



Ditemukan bakteri lain,
Terdapat gas di dasar media (warna hitam)
dan bersifat asam.



Bakteri *Proteus*



YAYASAN SAMODRA ILMU CENDEKIA
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
"INSAN CENDEKIA MEDIKA"

Prodi D3 Analis Kesehatan

SK Mendiknas No. 141/D/O/2005

Jl. K.H. Hasyim Asyari 171, Mojosongo – Jombang, Telp. 0321-877819, Fax.: 0321-864903
Jl. Halmahera 33 – Jombang, Telp.: 0321-854915, 0321-854916, e-Mail: Stikes_Icme_Jombang@Yahoo.Com

SURAT KETERANGAN PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dian Maulida Widyan, A. Md. AK

Jabatan : Staf Laboratorium Klinik Prodi DIII Analis Kesehatan

Menerangkan bahwa mahasiswa dibawah ini

Nama : Nor Afiah

NIM : 13.131.00

Telah melaksanakan pemeriksaan Identifikasi Bakteri *Escherechia coli* Pada Susu Kedelai di Laboratorium Mikrobiologi prodi DIII Analis Kesehatan Mulai 28 Mei 2016 s/d 6 Juni 2016 dengan hasil sebagai berikut :

| No | Sampel | 10 ml | 1 ml | 0,1 ml | Jumlah bakteri APM/ml | Keterangan lain |
|----|--------|-------|------|--------|--------------------------|-----------------|
| | | 5 | 5 | 5 | | |
| 1 | S1 | 3 | 2 | 3 | 20 | - |
| 2 | S2 | 1 | 3 | 1 | 10 | - |
| 3 | S3 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| 4 | S4 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| 5 | S5 | 0 | 0 | 0 | 1.800 | - |
| 6 | S6 | 0 | 0 | 0 | 1.800 | - |
| 7 | S7 | 0 | 0 | 0 | 1.800 | - |
| 8 | S8 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| 9 | S9 | 5 | 4 | 2 | 225 | - |
| 10 | S10 | 5 | 5 | 5 | 1.800 | - |

| | | | | | | |
|----|-----|---|---|---|-----|-----------------|
| 11 | S11 | 0 | 0 | 0 | 0 | - |
| 12 | S12 | 5 | 3 | 2 | 140 | - |
| 13 | S13 | 0 | 0 | 0 | 0 | Bakteri Proteus |

Dengan Kegiatan Laboratorium Sebagai berikut :

| No | Tanggal | Kegiatan | Hasil |
|----|--------------|---|--|
| 1 | 28 Mei 2016 | 1. Pembuatan media LB (Lactose Broth) dan BGLB (Brilliant cresyl blue) | 1. Media LB (Lactose Broth) dan BGLB (Brilliant cresyl blue) |
| 2 | 30 Mei 2016 | 1. Melakukan penanaman 6 sampel pada media LB 2. Pembuatan media EMB | 1. Media EMB |
| 3 | 31 Mei 2016 | 1. Melakukan penanaman hasil positif dari media LB Ke Media BGLB 2. Membuat Media TSI | 1. Terdapat gelembung gas pada tabung durham. 2. Media TSI |
| 4 | 01 Juni 2016 | 1. Menanam 7 sampel pada media LB 2. Menanam dari 6 sampel yang positif dari media BGLB ke media EMB | 1. Terdapat gelembung gas pada tabung durham pada media BGLB |
| 5 | 02 Juni 2016 | 1. Menanam hasil positif dari BGLB ke media EMB 2. Menanam dari 7 sampel positif dari media LB ke media BGLB | 1. Pengamatan hasil positif Terdapat gelembung gas pada tabung durham pada media LB |
| 6 | 03 Juni 2016 | 1. Menanam hasil yang positif dari media EMB Ke media TSI 2. Menanam hasil yang positif | 1. Hasil positif pada media EMB : terdapat koloni berwarna hijau |

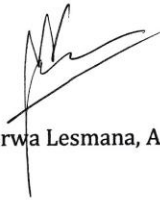
| | | | |
|---|--------------|--|--|
| | | dari media BGLB Ke media EMB. | metalik. |
| 7 | 04 Juni 2016 | 1.Pengamatan hasil penanaman di media TSI 2. Menanam hasil positif koloni hijau metalik dari media EMB ke media TSI | 1.Hasil di media TSI bakteri <i>E.coli</i> berwarna kuning, bersifat asam, terdapat seperti pecahan kaca |
| 8 | 06 juni 2016 | 1. Melakukan pengamatan secara mikroskopis | 1.Bakteri Escherichia . coli berbentuk batang, gram negatif. |

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Kepala Laboratorium Klinik

Prodi DIII Analis Kesehatan

Soffa Marwa Lesmana, A. Md. AK



Laboran

Dian Maulida Widyan, A. Md. AK



Mengetahui,

Ketua Prodi DIII Analis Kesehatan

Erni Setiyorini, S. KM., M.M.





**PERPUSTAKAAN
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN
INSAN CENDEKIA MEDIKA JOMBANG**

Kampus C : Jl. Kemuning No. 57 Candimulyo Jombang Telp. 0321-8165446

LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini kami selaku Staff Perpustakaan STIKes Insan Cendekia Medika Jombang menerangkan bahwa Mahasiswa dengan Identitas sebagai berikut :

Nama : NUR ALFIYAH
NIM : 131310066
Prodi : D3 Analisis Kesehatan
Judul : Identifikasi Bakteri Escherichia coli
pada Susu Kedelai yang dijual di
Toko-toko Desa Sumobito

Telah diperiksa dan diteliti bahwa pengajuan judul KTI /Skripsi di atas tidak ada dalam Portal Garuda Dikti, GDL (Ganesha Digital Library), maupun Software Otomigen X di Perpustakaan. Demikian surat pernyataan ini dibuat untuk dapat dijadikan referensi kepada Dosen pembimbing dalam mengerjakan KTI /Skripsi.

Mengetahui,
Ka. Perpustakaan


Dwi Nuriana, S.kom

3

TABEL Mc. CRADY

| Quantity of water: 10 ml 1 ml 0,1 ml | | | | | Quantity of water: 10 ml 1 ml 0,1 ml | | | | |
|--|-------|---|---|-----|--|-------|---|---|------|
| No. of samples of each quantity tested | 10 ml | | | 0,1 | No. of samples of each quantity tested | 10 ml | | | 0,1 |
| | 5 | 5 | 5 | 5 | | | | | |
| | 0 | 0 | 0 | 0 | | 4 | 0 | 0 | 13 |
| | 0 | 0 | 1 | 2 | | 4 | 0 | 1 | 17 |
| | 0 | 0 | 2 | 4 | | 4 | 0 | 2 | 20 |
| | 0 | 1 | 0 | 2 | | 4 | 0 | 3 | 25 |
| | 0 | 1 | 1 | 4 | | 4 | 1 | 0 | 17 |
| | 0 | 1 | 2 | 6 | | 4 | 1 | 0 | 17 |
| | 0 | 2 | 0 | 4 | | 4 | 1 | 1 | 20 |
| | 0 | 2 | 1 | 6 | | 4 | 1 | 2 | 25 |
| Number | 0 | 3 | 0 | 6 | Number | 4 | 2 | 0 | 20 |
| | 1 | 0 | 0 | 2 | | 4 | 2 | 1 | 25 |
| | 1 | 0 | 1 | 4 | | 4 | 2 | 2 | 30 |
| giving | 1 | 0 | 2 | 6 | giving | 4 | 3 | 0 | 25 |
| | 1 | 0 | 3 | 8 | | 4 | 3 | 1 | 35 |
| | 1 | 1 | 0 | 4 | positive | 4 | 3 | 2 | 40 |
| positive | 1 | 1 | 1 | 6 | | 4 | 4 | 0 | 35 |
| | 1 | 1 | 2 | 8 | | 4 | 4 | 1 | 40 |
| | 1 | 2 | 0 | 6 | reaction | 4 | 4 | 2 | 45 |
| reaction | 1 | 2 | 1 | 8 | | 4 | 5 | 0 | 40 |
| | 1 | 2 | 2 | 10 | | 4 | 5 | 1 | 50 |
| | 1 | 3 | 0 | 8 | | 4 | 5 | 2 | 55 |
| | 1 | 3 | 1 | 10 | (acid | 5 | 0 | 0 | 25 |
| (acid | 1 | 4 | 0 | 11 | | 5 | 0 | 1 | 30 |
| | 2 | 0 | 0 | 5 | of | 5 | 0 | 2 | 45 |
| | 2 | 0 | 1 | 7 | | 5 | 0 | 3 | 60 |
| | 2 | 0 | 2 | 9 | co | 5 | 0 | 4 | 75 |
| and | 2 | 0 | 3 | 12 | li | 5 | 1 | 0 | 35 |
| | 2 | 1 | 0 | 7 | fora | 5 | 1 | 1 | 45 |
| | 2 | 1 | 1 | 9 | | 5 | 1 | 2 | 65 |
| gas) | 2 | 1 | 2 | 12 | gas) | 5 | 1 | 3 | 85 |
| | 2 | 2 | 0 | 9 | | 5 | 1 | 4 | 115 |
| | 2 | 2 | 1 | 12 | ba | 5 | 2 | 0 | 50 |
| | 2 | 2 | 2 | 14 | li | 5 | 2 | 1 | 70 |
| | 2 | 3 | 0 | 12 | | 5 | 2 | 2 | 95 |
| | 2 | 3 | 1 | 14 | | 5 | 2 | 3 | 120 |
| | 2 | 4 | 0 | 15 | in | 5 | 2 | 4 | 150 |
| | 3 | 0 | 0 | 8 | | 5 | 2 | 5 | 175 |
| | 3 | 0 | 1 | 11 | 100 | 5 | 3 | 0 | 80 |
| | 3 | 0 | 2 | 13 | ml | 5 | 3 | 1 | 110 |
| | 3 | 1 | 0 | 11 | | 5 | 3 | 2 | 140 |
| | 3 | 1 | 1 | 14 | of | 5 | 3 | 3 | 175 |
| | 3 | 1 | 2 | 17 | | 5 | 3 | 4 | 200 |
| | 3 | 1 | 3 | 20 | | 5 | 3 | 5 | 250 |
| | 3 | 2 | 0 | 14 | wa | 5 | 4 | 0 | 130 |
| | 3 | 2 | 1 | 17 | ter | 5 | 4 | 1 | 170 |
| | 3 | 2 | 2 | 20 | | 5 | 4 | 2 | 225 |
| | 3 | 3 | 0 | 17 | | 5 | 4 | 3 | 275 |
| | 3 | 3 | 1 | 20 | | 5 | 4 | 4 | 350 |
| | 3 | 4 | 0 | 20 | | 5 | 4 | 5 | 425 |
| | 3 | 4 | 1 | 25 | | 5 | 5 | 0 | 250 |
| | 3 | 5 | 0 | 25 | | 5 | 5 | 1 | 350 |
| | | | | | | 5 | 5 | 2 | 550 |
| | | | | | | 5 | 5 | 3 | 900 |
| | | | | | | 5 | 5 | 4 | 1600 |
| | | | | | | 5 | 5 | 5 | 1800 |