

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Cincau

Cincau adalah gel seperti agar-agar yang berasal dari ekstrak daun atau bagian lain dari tanaman cincau. Tanaman cincau memiliki kandungan zat aktif flavonoid yang dapat berperan sebagai anti-hepatotoksik, anti-tumor, anti-inflamasi, anti-HIV 1, dan dapat memberikan efek vasodilatasi terhadap pembuluh darah yang membantu melindungi fungsi jantung (Ariana *et al.* 2021). Tanaman cincau sendiri telah lama digunakan sebagai bahan baku minuman. Di Indonesia cincau biasanya dikonsumsi dengan menambahkannya ke dalam berbagai jenis olahan minuman seperti es cincau, es campur, es buah dan lain-lain.

Cincau sendiri terbagi menjadi dua jenis, yaitu cincau hijau dan cincau hitam. Perbedaan cincau hijau dan cincau hitam bukan hanya pada tampilan warna dari keduanya tetapi juga dalam hal cita rasa, tekstur, proses pembuatan serta bahan baku yang digunakan pun berbeda. Cincau hijau berasal dari daun tanaman cincau hijau (*Cyclea barbata*) sementara cincau hitam berasal dari seluruh bagian dari tanaman janggolan (*Mesona palustris* BL) yang sudah dikeringkan. Proses pembuatan cincau hitam dilakukan dengan merebus daun serta batang kering dari tanaman janggolan yang kemudian disaring dan didinginkan, sementara itu pembuatan cincau hijau dilakukan dengan meremas daun segar dari tanaman *Cyclea barbata* dengan air matang kemudian disaring dan didiamkan hingga pati mengeras seperti jelly. Perbedaan proses pembuatan ini juga berpengaruh terhadap umur simpan, dimana cincau hijau hanya memiliki umur simpan 1-2 hari sementara cincau hitam memiliki umur simpan yang lebih lama dibandingkan cincau hijau yaitu sekitar 3-5 hari apabila disimpan di dalam kulkas.

1. Deskripsi cincau hitam

Cincau hitam merupakan gel yang memiliki bentuk serupa dengan agar-agar yang diperoleh dari proses perendaman dan perebusan tanaman janggolan atau *Mesona palustris*. Cincau hitam memiliki warna hitam yang pekat dengan tekstur kenyal yang mudah hancur serta memiliki rasa yang cenderung tawar dan

sedikit rasa pahit khas daun janggelan. Di Indonesia cincau hitam sering dimanfaatkan sebagai pelengkap dalam pembuatan minuman. Selain memberikan cita rasa yang khas adanya penambahan cincau hitam dalam minuman olahan mampu memberikan kesan menarik dan memberikan warna pada minuman tersebut.



Gambar 1. Cincau hitam

2. Morfologi tanaman cincau hitam

Cincau hitam berasal dari tanaman *Mesona palustris* atau lebih dikenal dengan nama janggelan oleh masyarakat Jawa. Tanaman cincau hitam ini berbentuk perdu atau bercabang-cabang dan tidak memiliki batang yang tegak, termasuk tanaman yang merumpun, berkayu, persegi kecil, berbulu, dan berwarna kemerahan. Daunnya berwarna hijau dengan betuk lonjong, tepi daun yang lemas dan ujungnya meruncing, serta pangkal tepi daun bergerigi dan berbulu (Yuwono 2015). Tanaman ini mampu tumbuh di daerah dengan ketinggian mencapai 2.300 mdpl, umumnya tumbuh secara liar di hutan-hutan akan tetapi juga cocok untuk ditanam dan dibudidayakan di lahan pertanian ataupun dipekarangan rumah.



Gambar 2 Tanaman Mesona palustris (Pitojo dan Zumiaty, 2005)

Menurut Senditya *et al.* (2014), klasifikasi tanaman cincau hitam adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Sub-kingdom : *Tracheobionta*
 Super divisi : *Spermatophyta*
 Divisi : *Magnoliophyta*
 Kelas : *Magnoliopsida*
 Sub kelas : *Asteridae*
 Ordo : *Lamiales*
 Famili : *Laminaceae*
 Genus : *Mesona*
 Spesies : *Mesona palustritis* BL.

3. Manfaat cincau hitam

Cincau hitam menjadi olahan pangan minuman yang kaya akan serat sehingga bagus untuk sistem pencernaan, mampu mengobati panas dalam, sakit tenggorokan, dan juga sariawan. Unsur yang terkandung dari cincau hitam yaitu karbohidrat, polifenol, saponin, flavonoid, dan lemak. Selain itu, cincau hitam juga mengandung vitamin A, vitamin B, kalsium, dan fosfor (Sari *et al.* 2020).

B. Cemaran mikroba pada pangan

Pangan merupakan kebutuhan pokok yang paling mendasar yang dibutuhkan oleh manusia untuk bertahan hidup dan beraktifitas. Asupan nutrisi yang baik dari pangan memberikan segudang manfaat bagi tubuh seperti meningkatkan daya tahan tubuh, menjaga kesehatan tulang, gigi, dan mata. Berdasarkan UU nomor 18 Tahun 2012, Pangan adalah segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati produk pertanian, perkebunan, kehutanan, perikanan, peternakan, perairan dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah yang diperuntukan sebagai makanan atau minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan, dan bahan lainnya yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan/atau pembuatan makanan atau minuman. Pengawasan cemaran pada pangan perlu dilakukan guna menghindari adanya dampak buruk yang mungkin dapat ditimbulkan nantinya.

Cemaran pangan meliputi cemaran biologis berupa mikroorganisme yang berbahaya, cemaran kimia bersumber dari senyawa kimia yang tidak boleh

digunakan, dan cemaran benda asing seperti pecahan kaca, batu kerikil, kayu dan lain-lain. Adanya cemaran mikroba pada pangan dapat membahayakan kesehatan manusia. Pangan yang telah terkontaminasi mikroorganisme dapat menyebabkan perubahan tampilan dan makanan akan lebih cepat membusuk. Virus, bakteri, kapang dan juga parasit seperti protozoa dan cacing sering mengkontaminasi produk pangan apabila tidak dilakukan pengolahan makanan dengan benar. Umumnya mikroba dapat mengkontaminasi bahan pangan melalui air yang telah tercemar, debu, peralatan yang kotor dan serangga seperti lalat.

Sanitasi yang buruk menjadi salah satu faktor terjadinya kontaminasi mikroba pada pangan. Selain itu, penggunaan bahan yang tercemar, penyajian makanan dalam keadaan terbuka serta pengolahan dan penyimpanan yang tidak sesuai turut berperan dalam pencemaran mikroba pada pangan. Kontaminasi mikroorganisme patogen yang menghasilkan toksin dapat menyebabkan keracunan makanan yang ditandai dengan dehidrasi, mual dan muntah, diare, sakit perut, dan demam. Bahkan keracunan makanan dapat berujung dengan kematian jika tidak ditangani dengan benar.

Pencegahan dan pengendalian cemaran mikroorganisme perlu dilakukan untuk melindungi diri dari bahaya yang mungkin dapat ditimbulkan akibat tercemarnya pangan oleh mikroorganisme. Pengendalian cemaran merupakan upaya untuk meminimalisir dampak buruk dan memaksimalkan pemanfaatan mikroorganisme bagi kehidupan sehari-hari. Pencegahan cemaran mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit, mencegah kontaminasi yang tidak diinginkan, menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan menciptakan lingkungan yang bersih. Pengendalian mikroorganisme dapat dilakukan dengan menjaga kebersihan diri dan lingkungan sekitar, memperhatikan kebersihan setiap makanan yang kita konsumsi, rajin mencuci tangan, mencuci buah dan sayur sampai bersih, mengolah makanan hingga matang serta memisahkan daging mentah dengan bahan pangan lain untuk menghindari kontaminasi silang. Beberapa contoh mikroorganisme patogen yaitu bakteri *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium citrinum* dan lain sebagainya.

C. Bakteri *Escherichia coli*

1. Morfologi *Escherichia coli*

Escherichia coli merupakan bakteri yang dapat menyebabkan diare atau infeksi saluran pencernaan. Bakteri ini umum ditemukan pada saluran pencernaan dan menjadi salah satu bakteri patogen penyebab Foodborne disease atau penyakit yang ditularkan melalui makanan atau minuman yang tercemar. *Escherichia coli* merupakan golongan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 1-1,5µm x 1-6µm, bersifat anaerob fakultatif atau dapat tumbuh dengan atau tanpa adanya oksigen. Bakteri ini mampu memproduksi indol serta kurang mampu dalam memfermentasi sitrat. *Escherichia coli* termasuk ke dalam golongan bakteri heterotof yaitu jenis bakteri yang tidak dapat menyusun sendiri zat organik sehingga membutuhkan zat organik dari lingkungannya untuk memperoleh makanan. Zat organik diperoleh dari sisa-sisa organisme lain yang kemudian diuraikan menjadi zat anorganik seperti CO₂, H₂O, dan mineral lainnya (Molita 2017).

Menurut Kuswiyanto (2014), taksonomi *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

| | |
|---------|---------------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Phylum | : Proteobacteria |
| Class | : Gammaproteobacteria |
| Ordo | : Eubacteriales |
| Family | : Enterobacteriaceae |
| Genus | : Escherichia |
| Spesies | : <i>Escherichia coli</i> |

2. Cemaran bakteri *Escherichia coli* pada makanan

Penularan *Escherichia coli* dapat terjadi karena kurangnya kebersihan dan sanitasi dalam mengolah makanan. Selain itu, penularan *Escherichia coli* juga dapat melalui air yang telah terkontaminasi oleh kotoran manusia. Dengan terkontaminasinya air dan kurangnya kesadaran masyarakat dalam menjaga kebersihan menjadi salah satu faktor penyebab mudahnya terjangkit penyakit

Foodborne disease. Penularan cemaran *Escherichia coli* dapat dicegah dengan menjaga kebersihan diri dan lingkungan sekitar dengan mebiasakan mencuci tangan sebelum makan dan setelah keluar dari toilet, menjauhkan sumber air yang dikonsumsi dari tempat pembuangan kotoran, serta memisahkan peralatan yang digunakan untuk mengolah daging mentah untuk menghindari adanya kontaminasi silang.

3. Uji cemaran bakteri *Escherichia coli*

Pengujian cemaran bakteri *Escherichia coli* menggunakan metode MPN (Most Probable Number) merupakan metode yang digunakan untuk menghitung jumlah bakteri coliform. Metode ini menggunakan tabung reaksi yang telah diisi oleh medium cair. Pengamatan dilakukan dengan melihat kekeruhan pada medium cair yang telah diinkubasi atau dengan melihat terbentuknya gas dalam tabung durham bagi bakteri pembentuk gas. Umumnya setiap pengenceran membutuhkan 3 atau 5 seri tabung pengenceran. Makin banyak seri pengenceran yang digunakan, makin tinggi tingkat ketelitian dalam perhitungan nilai MPN (Jiwintarum 2017).

Pengujian dengan metode MPN memiliki beberapa tahapan yaitu uji penduga, uji penegas dan uji pelengkap. Uji penduga merupakan pengujian yang digunakan untuk mengetahui adanya bakteri yang memproduksi gas dan bakteri yang mampu menyebabkan perubahan warna pada indikator uji. Menurut Vesilind, Uji penegas dimaksudkan untuk mempertegas bakteri yang diuji dalam pengujian penduga, dimana pengujian ini berfungsi untuk membedakan bakteri coliform *fecal* dan *nonfecal* (Krisnamurti 2017). Media yang digunakan pada uji penegas yaitu media BGLBB atau *brilliant green lactose bile broth*. Media ini merupakan media cair selektif diferensial yang dapat mengkonfirmasi adanya bakteri koliform pada makanan terutama sampel air, selain itu oxygal (bile) dan *brilliant green* mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram negatif nonkoliform dan bakteri Gram positif. Sementara pada uji pelengkap berfungsi untuk mengetahui jenis bakteri coliform apa yang terdapat pada sampel uji dengan melakukan pewarnaan Gram dan pengujian biokimia. Pengujian biokimia dilakukan dengan menggunakan media KIA, LIA, SIM dan Sitrat.

D. Bakteri *Salmonella sp*

1. Morfologi *Salmonella sp*

Salmonella sp merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang lurus dengan ukuran 1-3µm, tidak memiliki spora dan bersifat motil, dapat tumbuh dengan baik pada suhu 37°C dan pH lingkungan berkisar 6,8. Bakteri ini berkembang biak dengan cara membelah diri dan dengan mudah tumbuh pada medium yang sederhana. Bakteri ini umum ditemukan pada saluran gastrointestinal atau saluran pencernaan yang meliputi mulut, kerongkongan, lambung, usus halus, usus besar, dan anus. Selain itu, *Salmonella* juga dapat ditemukan di tanah air, dan feses (Sari 2018).

Menurut Kuswiyanto (2016), taksonomi dari *Salmonella sp* adalah sebagai berikut:

| | |
|---------|------------------------|
| Kingdom | : Bacteria |
| Phylum | : Proteobacteria |
| Class | : Gamma proteobacteria |
| Ordo | : Enterobacteriales |
| Family | : Enterobacteriaceae |
| Genus | : <i>Salmonella</i> |
| Spesies | : <i>Salmonella sp</i> |

2. Cemaran bakteri *Salmonella sp* pada makanan

Penyebaran bakteri ini melalui olahan daging dan telur yang dimakan mentah tanpa melalui proses pemasakan. Apabila makanan yang terkontaminasi *Salmonella sp* dan tertelan oleh tubuh dapat mengakibatkan berbagai penyakit infeksi saluran cerna seperti diare, mual dan muntah, serta dapat menyebabkan komplikasi serius pada seseorang yang memiliki immunosupresif seperti pada pasien pengidap HIV/AIDS. Pencegahan kontaminasi *Salmonella sp* dapat dilakukan dengan mengolah makanan terutama produk hewani dengan benar, hindari mengonsumsi daging dan telur mentah karena produk unggas menjadi salah satu tempat berkembang biak *Salmonella sp*.

3. Pengujian bakteri *Salmonella sp*

Pengujian cemaran bakteri *Salmonella sp* pada cincau hitam melalui beberapa tahap yaitu tahap pra-pengayaan, pengayaan, serta isolasi dan identifikasi. Tahap pra-pengayaan ditujukan untuk membantu mengurangi tingkat kematian sel bakteri *Salmonella sp* yang diakibatkan proses pemanasan, pendinginan, pengeringan dan tekanan osmotik selama proses preparasi sampel (Aulia *et al.* 2015). Media yang digunakan pada tahap pra-pengayaan yaitu media *Buffer pepton*. *Buffer pepton* merupakan media yang memiliki komponen dasar berupa peptone dan amino tryptophane yang tinggi berfungsi sebagai sumber nitrogen, karbon, vitamin dan nutrisi esensial untuk pertumbuhan bakteri (MicrobeHolic 2020). Tahap pengayaan yaitu dimaksudkan untuk menekan pertumbuhan bakteri lain selain *Salmonella* sehingga diperlukan media yang selektif untuk mengkultur bakteri *Salmonella*. Media yang digunakan yaitu media *Selenit broth*. Media ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri koliform dan jenis mikroba lainnya dan paling banyak digunakan untuk mengisoalsi *Salmonella* dan *Shigella* yang terdapat pada feses (Arya 2022).

Pengujian tahap selanjutnya yaitu isolasi dan identifikasi bakteri. Pada tahap ini dilakukan penanaman hasil pengayaan sampel pada media SSA (*Salmonella Shigella* Agar). Media ini selektif untuk menumbuhkan bakteri Gram negatif khususnya *Salmonella* dan *Shigella* dengan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Pertumbuhan *Salmonella sp* ditandai dengan terbentuknya koloni berwarna kehitaman. Hal ini dikarenakan *Salmonella sp* dapat menghasilkan H₂S atau hidrogen sulfida. Media SSA mengandung sodium thiosulphate yang dirombak oleh mikroorganisme tertentu menjadi sulfit dan gas H₂S yang mana gas H₂S membentuk endapan hitam ferrous sulfida yang tidak larut dan terbentuk pada reaksi antara H₂S dengan ion *ferric* atau *ferric citrate* pada bagian tengah koloni (Maritsa 2017). Identifikasi koloni bakteri pada media SSA dilanjutkan dengan melakukan pewarnaan Gram dan pengujian biokimia untuk melihat karakteristik bakteri yang dihasilkan dari proses isolasi. Pengujian biokimia dilakukan dengan menggunakan media KIA, LIA, SIM dan Sitrat.

E. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan suatu teknik pewarnaan yang digunakan untuk membedakan bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif yang didasari pada perbedaan struktur dinding selnya (Putri & Kusdiyanti, 2018). Bakteri Gram positif memiliki satu lapisan peptidoglikan yang menjadi penyusun utama dari bakteri tersebut, sedangkan bakteri Gram negatif memiliki tiga lapisan berupa membran luar, dinding sel, dan membran plasma dengan lipid sebagai komponen penyusun terbesar bakteri Gram negatif (Putri & Kusdiyanti, 2018). Pewarnaan Gram sendiri bertujuan untuk mempermudah pengamatan bakteri secara mikroskopik, memperjelas bentuk dan ukuran bakteri serta mempermudah dalam mengamati struktur bakteri seperti dinding sel, vakuola, dan bentuk bakteri yang berupa batang atau basil, kokus atau bulat ataupun bakteri yang berbentuk spiral (Ningsih & Wiranto, 2022).

Pewarnaan Gram menggunakan reagent berupa kristal violet sebagai zat warna dasar, Lugol sebagai pengintensif warna, Alkohol 95% sebagai peluntur warna, dan Safranin sebagai pewarna penutup. Bakteri Gram positif yang memiliki lapisan peptidoglikan tebal mampu menahan kristal violet (Gram A) setelah pencucian dengan menggunakan alkohol. Sementara itu, bakteri Gram negatif cenderung memiliki peptidoglikan yang tipis mengakibatkan kristal violet akan luntur saat dicuci menggunakan alkohol dan akan menyerap warna merah dari safranin. Dengan demikian, bakteri Gram positif akan menghasilkan warna ungu atau violet dan bakteri Gram negatif akan berwarna merah apabila diamati dibawah mikroskop.

F. Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan pengujian yang umum dilakukan dalam mengidentifikasi jenis bakteri. Pengujian ini dilakukan guna mengetahui sifat fisiologis koloni bakteri yang dihasilkan dari proses isolasi sampel. Sebagaimana diketahui, bakteri memiliki bentuk morfologi yang cukup terbatas. Umumnya bakteri memiliki bentuk morfologi yang berbentuk batang, kokus, dan spiral. Keterbatasan bentuk morfologi inilah yang menjadikan bakteri sulit diidentifikasi

tanpa dilakukannya pengujian biokimia. Pada dasarnya, pengujian ini memanfaatkan kemampuan bakteri dalam mereaksikan senyawa kimia yang terdapat pada media uji yang kemudian akan menghasilkan senyawa lain dan dikaitkan dengan sifat fisiologis bakteri tersebut (Rifai, 2021). Media yang umum dilakukan pada uji biokimia yaitu media KIA, LIA, SIM, dan Sitrat.

Media KIA (*Kliger Iron Agar*) merupakan media yang mengandung laktosa dan glukosa yang umum digunakan untuk mendeteksi kemampuan bakteri dalam memfermentasikan kedua jenis gula tersebut, serta mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam memproduksi sulfida. Pada dasarnya, bakteri yang berbeda memiliki kemampuan fisiologis yang berbeda pula dalam memfermentasikan glukosa, laktosa serta senyawa lainnya. Bakteri yang mampu memfermentasikan glukosa dan/atau laktosa akan melepaskan asam metabolik yang dapat menurunkan pH sehingga mengubah media KIA yang awalnya merah menjadi kuning pada bagian dasar serta lereng media. Namun, apabila bakteri tidak dapat memfermentasikan laktosa sebagai sumber karbon dan penipisan glukosa akan memicu reaksi oksidatif pepton pada bagian lereng media. Reaksi ini akan meningkatkan pH sehingga media bersifat basa dan membentuk warna merah pada bagian lereng media. Sementara itu, pada bagian dasar media akan tetap berwarna kuning. Hal ini dikarenakan tidak adanya oksigen pada dasar media menyebabkan kerusakan oksidatif pepton tidak terjadi dan warna media akan tetap kuning. Dengan demikian, bakteri yang dapat memfermentasikan glukosa namun tidak dapat memfermentasikan laktosa akan menghasilkan warna merah pada bagian lereng media serta warna kuning pada bagian dasar media yang kemudian dituliskan dengan simbol K/A (Aryal, 2023).

Media *Lysine Iron Agar* (LIA) mengandung glukosa, lisina, pepton, garam besi, natrium tiosulfat dan indikator pH yang berupa bromcresol purple. Pada dasarnya, pengujian biokimia menggunakan media LIA adalah untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri dalam mendeaninasi atau mendekarboksilasi asam amino lisina serta memproduksi hidrogen sulfida (Prisnanda & Wulandari, 2022). Deaminasi merupakan proses aerobik yang terjadi pada lereng media, sementara dekarboksilasi merupakan proses anerobik yang terjadi pada dasar

media. Apabila bakteri mampu memfermentasi glukosa, maka pada dasar media akan menjadi asam dan terbentuk warna kuning. sementara itu, apabila bakteri mendekarboksilasi lisina, maka akan terbentuk kadaverin yang menetralkan asam yang terbentuk dari fermentasi glukosa dan dasar media akan kembali menjadi basa atau terbentuk warna ungu dan apabila dekarboksilasi tidak diproduksi, dasar media akan tetap berwarna kuning atau asam. Selanjutnya, bakteri yang mendeaminasi lisin akan membentuk asam alfa-ketokarboksilat yang bereaksi dengan garam besi pada permukaan media dan berikatan dengan oksigen akan membentuk senyawa berwarna coklat kemerahan, apabila deaminasi tidak terjadi, maka lereng media LIA akan tetap berwarna ungu. Sementara itu, natrium tiosulfat yang terkandung dalam media ini akan bertindak sebagai substrat yang mereduksi gas hidrogen sulfida tak berwarna hasil reaksi dengan amonium sitrat feri untuk menghasilkan sulfida fero yang ditandai dengan adanya endapan yang menghitam pada media uji (Aryal 2022).

Media SIM merupakan media yang sering digunakan dalam pengujian biokimia yang digunakan sebagai penegas dalam identifikasi bakteri *Escherichia coli*. Pengujian menggunakan media SIM diperuntukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi hidrogen sulfida (H_2S) yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna hitam pada jalur inokulasi. Selain itu, pengujian ini juga mendeteksi kemampuan bakteri dalam menghasilkan indol dan memeriksa kemampuan bakteri bergerak dalam media agar. Pengujian indol dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memecah triptofan asam amino yang kemudian akan membentuk senyawa indol. Produksi indol ini dideteksi dengan bantuan reagen Kovac yang akan menghasilkan warna merah pada permukaan media. Uji motilitas atau kemampuan bakteri untuk bergerak dalam media uji biasa dilakukan dalam mengidentifikasi *Enterobacteriaceae* seperti membedakan *Klebsiella* dari golongan *Enterobacter* lainnya (Rifai 2021). Dalam pengujian motilitas bakteri pada media SIM dinyatakan positif apabila pertumbuhan bakteri menyebar keluar dari garis tusukan serta terjadinya perubahan media yang menjadi lebih keruh.

Media sitrat merupakan media yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon utama berupa natrium sitrat. Selain natrium sitrat, media ini juga mengandung kalium fosfat, natrium klorida, magnesium sulfat, amonium dihidrogen fosfat serta agar bakteriologis sebagai pemadat media. Apabila bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai karbon utama, garam amonium akan dipecah menjadi amonia yang meningkatkan pH media sehingga terjadi perubahan media yang awalnya hijau menjadi biru (Aryal 2022). Sampel dinyatakan positif apabila terjadi perubahan media dari hijau menjadi biru.

G. Persyaratan cemaran bakteri

Persyaratan cemaran bakteri pada produk makanan dan minuman ditujukan guna menjaga kualitas makanan serta untuk mencegah adanya bakteri patogen yang dapat menimbulkan suatu penyakit. Persyaratan cemaran bakteri pada produk pangan ditetapkan oleh Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM RI). Persyaratan cemaran bakteri pada cincau hitam adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Batas cemaran bakteri pada cincau hitam menurut BPOM RI No.13 tahun 2019

| Cemaran Mikroba | n | c | m | M |
|-------------------------|---|---|---------------|----|
| <i>Escherichia coli</i> | 5 | 0 | 3 APM / g | NA |
| <i>Salmonella</i> | 5 | 0 | Negatif / 25g | NA |

Keterangan :

- n : Jumlah sampel yang harus dianalisa.
- c : Jumlah sampel hasil analisis dari n yang boleh melampaui m namun tidak boleh melebihi batas maksimal (M).
- m : Batas mikroba yang dapat diterima.
- M : Batas maksimal mikroba.

H. Landasan teori

Cincau hitam adalah gel seperti agar-agar yang terbuat dari ekstrak seluruh bagian simplisia *Mesona palustris*. Cincau hitam mengandung beberapa nutrisi penting seperti karbohidrat, serat, protein, vitamin, dan mineral. Manfaat cincau hitam membantu menjaga kesehatan pencernaan dan mencegah sembelit. Cincau hitam juga mengandung beberapa mineral seperti kalsium, fosfor, natrium, dan kalium. Kalsium dan fosfor dalam cincau hitam membantu menjaga kesehatan

tulang dan gigi, sementara natrium dan kalium berperan dalam menjaga keseimbangan cairan dan elektrolit dalam tubuh (Samodra 2023).

Cincau hitam dapat menjadi makanan yang beresiko terkontaminasi oleh bakteri dikarenakan kandungan terbesar cincau adalah air yaitu hampir mencapai 98%. Kondisi tersebut dapat menyebabkan bakteri dapat tumbuh pada cincau hitam jika kebersihannya tidak dijaga dengan baik. Higiene dan sanitasi yang buruk juga merupakan faktor yang dapat menyebabkan makanan terkontaminasi dengan bakteri.

Cincau hitam yang dijual di pasar tradisional umumnya dijajakan dalam kondisi terbuka dan langsung diletakkan di meja penjualan yang bersentuhan langsung dengan udara. Hal tersebut dapat memudahkan debu, kotoran, maupun mikroba menempel pada cincau hitam. Pedagang di pasar tradisional terkadang juga kurang memperhatikan kebersihan tangan serta kondisi lingkungan pasar yang kumuh dan banyak sampah juga dapat menjadi sumber kontaminasi.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Ekawati *et al.* 2022) dari 6 sampel cincau hitam terdeteksi tercemar bakteri *Salmonella sp* dan *Klebsiella sp*. Berdasarkan permasalahan tersebut perlu dilakukan uji cemaran mikroba pada cincau hitam yang disesuaikan dengan Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2019 tentang batas maksimal cemaran mikroba dalam pangan.

Pengujian cemaran mikroba pada cincau hitam yang dijual di pasar Palur bertujuan untuk mengetahui apakah cemaran mikroba pada cincau hitam memenuhi persyaratan batas cemaran mikroba yang telah ditetapkan oleh BPOM. Bakteri yang menjadi topik pengujian yaitu bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp*.

Escherichia coli merupakan bakteri yang dapat menyebabkan diare atau infeksi saluran pencernaan. Bakteri ini umum ditemukan pada saluran pencernaan dan menjadi salah satu bakteri patogen penyebab Foodborne disease atau penyakit yang ditularkan melalui makanan atau minuman yang tercemar. Dilansir dari Kompas.com sepanjang tahun 2023, Dinas Kesehatan Kabupaten Bogor mencatat ada tiga kasus *Foodborne Disease* yang diakibatkan oleh bakteri *Escherichia*

coli. Cemarkan ini diakibatkan oleh sanitasi yang buruk mulai dari pengolahan makanan sampai penyajian makanan.

Sementara itu pada Juli 2023, sekitar 71 orang di Surabaya menjadi korban keracunan massal yang diakibatkan bakteri *Salmonella sp.* Kepala Dinkes Surabaya, Nanik Sukristina menyatakan daging yang dimasak menjadi sate, gulai daging dan krengsengan terkonfirmasi tercemar *Salmonella sp.* Hal ini kemungkinan disebabkan oleh daging yang dimasak kurang dicuci bersih dan tidak dimasak sampai matang (Widiyana 2023).

I. Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini yaitu :

Pertama, terdapat cemarkan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* pada produk cincau hitam yang dijual di pasar Palur

Kedua, terdapat ketidaksesuaian hasil uji cemarkan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* pada produk cincau hitam yang dijual di pasar Palur, Karanganyar terhadap peraturan BPOM No. 13 Tahun 2019 dan kedua sampel melebihi batas cemarkan mikroba yang sudah ditetapkan oleh BPOM.