

MIKROBA PATOGEN PADA MAKANAN DAN SUMBER PENCEMARANNYA

ALBINER SIAGIAN

Fakultas Kesehatan Masyarakat
Universitas Sumatera Utara

1. Pendahuluan

Bahan makanan, selain merupakan sumber gizi bagi manusia, juga merupakan sumber makanan bagi mikroorganisme. Pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan dapat menyebabkan perubahan yang menguntungkan seperti perbaikan bahan pangan secara gizi, daya cerna ataupun daya simpannya.

Selain itu pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan juga dapat mengakibatkan perubahan fisik atau kimia yang tidak diinginkan, sehingga bahan pangan tersebut tidak layak dikonsumsi. Kejadian ini biasanya terjadi pada pembusukan bahan pangan.

Bahan pangan dapat bertindak sebagai perantara atau substrat untuk pertumbuhan mikroorganisme patogenik dan organisme lain penyebab penyakit. Penyakit menular yang cukup berbahaya seperti tifus, kolera, disentri, atau tbc, mudah tersebar melalui bahan makanan.

Gangguan-gangguan kesehatan, khususnya gangguan perut akibat makanan disebabkan, antara lain oleh kebanyakan makan, alergi, kekurangan zat gizi, keracunan langsung oleh bahan-bahan kimia, tanaman atau hewan beracun; toksin-toksin yang dihasilkan bakteri; mengkonsumsi pangan yang mengandung parasit-parasit hewan dan mikroorganisme. Gangguan-gangguan ini sering dikelompokkan menjadi satu karena memiliki gejala yang hampir sama atau sering tertukar dalam penentuan penyebabnya.

Secara umum, istilah *keracunan makanan* yang sering digunakan untuk menyebut gangguan yang disebabkan oleh mikroorganisme., mencakup gangguan-gangguan yang diakibatkan termakannya toksin yang dihasilkan organisme-organisme tertentu dan gangguan-gangguan akibat terinfeksi organisme penghasil toksin. Toksin-toksin dapat ditemukan secara alami pada beberapa tumbuhan dan hewan atau suatu produk metabolit toksik yang dihasilkan suatu metabolisme. Dengan demikian, *intoksikasi pangan* adalah gangguan akibat mengkonsumsi toksin dari bakteri yang telah terbentuk dalam makanan, sedangkan *infeksi pangan* disebabkan masuknya bakteri ke dalam tubuh melalui makanan yang telah terkontaminasi dan sebagai akibat reaksi tubuh terhadap bakteri atau hasil-hasil metabolismenya.

1.2. Organisme Penyebab Penyakit

a. Bakteri

Berdasarkan klasifikasi diatas, ada dua intoksikasi pangan utama yang disebabkan bakteri (Tabel 1), yaitu (1) botulisme, disebabkan oleh toksin yang dihasilkan oleh *Clostridium botulinum* dan (2) intoksikasi stafilokoki, disebabkan oleh toksin yang dihasilkan oleh *Staphylococcus aureus*. Gejala-gejala yang ditimbulkan oleh intoksikasi terlihat setelah 3-12 jam setelah memakan bahan makanan tersebut dan ditandai oleh muntah-muntah ringan dan diare.

Tabel 1. Keracunan Makanan Karena Bakteri

Intoksikasi	Infeksi
1. Intoksikasi stapilokoki (enterotoksin stapilokoki diproduksi oleh <i>Staphylococcus aureus</i>) 2. Botulism: neurotoksin diproduksi oleh <i>Clostridium botulinum</i>	1. Salmonellosis: enterotoksin dan sitotoksin dari <i>Salmonella spp.</i> 2. <i>Clostridium perfringens</i> : entertoksin diproduksi selama sporulasi <i>C. Perfringens</i> tipe A dalam saluran pencernaan 3. <i>Bacillus cereus</i> : entertoksin diproduksi selama sel lisis dalam saluran pencernaan 4. <i>Escherichia coli enteropatogenik</i> 5. <i>Campylobacter jejuni, C.coli</i> 6. <i>Listeria monocytogenes</i> 7. Yersiniosis Shigellosis <i>Vibrio parahaemolyticuz</i>

Indeks pangan dapat digolongkan ke dalam dua kelompok: (1) infeksi dimana makanan tidak menunjang pertumbuhan patogen tersebut, misalnya, patogen penyebab tuberkolosis (*Mycobacterium bovis* dan *M. tuberculosis*), brucellosis (*Brucela aortus, b. melitensis*), diprteri (*Corynebacterium diphtheriae*), disentri oleh *Campylobacter*, demam tifus, kolera, hepatitis, dan lain-lain; dan (2) infeksi dimana makanan berfungsi sebagai medium kultur untuk pertumbuhan patogen hingga mencapai jumlah yang memadai untuk menimbulkan infeksi bagi pengonsumsi makanan tersebut; infeksi ini mencakup *Salmonella spp, Listeria, vibrio parahaemolyticus*, dan *Escherichia coli* enteropatogenik. Penularan infeksi jenis kedua ini lebih mewabah dari pada jenis-jenis gangguan perut yang lain. Gejala-gejala yang disebabkan infeksi mulai terlihat setelah setelah 12-24 jam dan ditandai dengan sakit perut bagian bawah (abdominal pains), pusing, diare, muntah-muntah, demam dan sakit kepala. Pada tabel 2 disajikan gejala-gejala penyakit yang ditimbulkan oleh bakteri patogen dan waktu inkubasi yang diperlukan untuk menimbulkan gejala.

Beberapa peneliti menyarankan penyakit yang disebabkan oleh *Clostridium perfringens* dan *Bacillus cereus* dikategorikan sebagai intoksikasi karena kedua jenis bakteri dapat memproduksi toksin. Akan tetapi untuk menimbulkan efek keracunan, sejumlah besar sel hidup harus terkonsumsi. Demikian juga *Salmonella* dapat menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin didalam saluran pencernaan. Sebaliknya *Saereus* yang tergolong ke dalam intoksikasi, dapat mengkolonikasi mukosa dalam saluran pencernaan dan menyebabkan diare kronis. Dengan demikian klasifikasi keracunan makanan ini harus digunakan secara hati-hati.

b. Non-Bakteri

Kapang

Selain oleh bakteri, kapang juga dapat menimbulkan penyakit yang dibedakan atas dua golongan, yaitu (1) infeksi oleh fungi yang disebut *mikosis* dan (2) keracunan yang disebabkan oleh tertelannya metabolik beracun dari fungi atau *mikotoksikosis*. *Mikotoksikosis* biasanya tersebar melalui makanan, sedangkan mikosis tidak melalui makanan tetapi melalui kulit atau lapisan epidermis, rambut dan kuku akibat sentuhan, pakaian, atau terbawa angin.

Senyawa beracun yang dihasilkan fungi disebut *mikotoksin*. Toksin ini dapat menimbulkan gejala skit yang kadang-kadang fatal. Beberapa diantaranya bersifat

Tabel 2. Waktu Inkubasi dan Gejala Penyakit yang Ditimbulkan oleh Bakteri Patogen

Jenis bakteri dan Penyakit	Waktu inkubasi	Gejala
<i>Clostridium botulinum</i> (Botulism)	12-36 jam, atau lebih lama atau lebih pendek	Gangguan pencernaan akut yang diikuti oleh pusing-pusing dan muntah-muntah, bisa juga diare, lelah, pening dan sakit kepala. Gejala lanjut konstipasi, Double fision, kesulitan menelan dan berbicara, lidah bisa membengkak dan tertutup, beberapa otot lumpuh, dan kelumpuhan bisa menyebar kehati dan saluran pernafasan. Kematian bisa terjadi dalam waktu tiga sampai enam hari.
Intoksikasi <i>staphylococcus aureus</i>	1-7 jam, biasanya 2-4 jam	Pusing, muntah-muntah, kram usus, diare berdarah dan berlendir pada beberapa kasus, sakit kepala, kram otot, berkeringat, menggigil, detak jantung lemah, pembengkakan saluran pernafasan
<i>Salmonella</i> (Salmonellosis)	12-36 jam	Pusing, muntah-muntah, sakit perut bagian bawah, diare. Kadang-kadang didahului sakit kepala dan menggigil
Infeksi <i>clostridium perfringes</i>	8-24 jam, rata-rata 12 jam	Sakit perut bagian bawah diare dan gas. Demam dan pusing-pusing jarang terjadi
<i>campylobacter</i>	2-3 hari tapi bisa 7-10 hari	Sakit perut bagian bawah, kram, diare, sakit kepala, demam, dan kadang-kadang diare berdarah.
Infeksi <i>vibrio para haemolyticus</i>	2-48 jam, biasanya 12 jam	Sakit perut bagian bawah, diare berdarah dan berlendir, pusing, muntah-muntah, demam ringan, menggigil, sakit kepala, recoveri dalam 2-5 hari
Infeksi <i>Escherichia col</i> enteropatogenik	Tipe invasif : 8-24 jam, rata-rata 11 jam; tipe enterksigenik : 8-44jam, rata-rata 26 jam	Tipe invasif: Panas dingin, sakit kepala, kram usus, diare berair seperti shigellosis; tipe enterotoksigenik: diare, muntah-muntah, dehidrasi, shock.

<i>Bacillus cereus</i>	8-16 jam atau 1,5 - 5 jam	Pusing, kram usus, diare berair, beberapa muntah-muntah
Shigellosis (infeksi <i>shigella sonnei</i> , <i>S. flexneri</i> , <i>S. dysenteriae</i> , <i>S. boydii</i>)	1-7 hari, biasanya kurang dari 4 hari	Kram usus, panas dingin, diare berair sering kali berdarah dan berlendir, sakit kepala, pusing, dehidrasi
Yersiniosis (<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , <i>Y. enterocolitica</i>)	24-36 jam atau lebih	Sakit perut bagian bawah, demam, menggigil, sakit kepala, malaise, diare, muntah-muntah, pusing, pharingitis, leukocytosis
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1-3 hari	Sakit tenggorokan, sakit pada waktu menelan, tonsilitis, demam tinggi, sakit kepala, pusing, muntah-muntah, malaise, rhinorrhea.

karsinogen. Beberapa mikotoksin bersifat *halusinogenik*, misalnya asam lisergat. Beberapa contoh mikotoksin disampaikan pada tabel 2.

Virus

Virus adalah mikroorganisme ultramikroskopik dan dapat lolos filter 0,22 µm. Virus berkembang biak hanya pada inang yang sesuai dan tidak dapat tumbuh diluar inang. Beberapa virus dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan ciri-cirinya hampir sama dengan yang ditimbulkan oleh bakteri. Sebagian virus juga dapat menginfeksi tanpa adanya simpton sampai virus tersebut menyerang jaringan sel yang lain, misalnya jaringan saraf, melalui aliran darah. Transmisi virus yang dapat menyebabkan gangguan pencernaan dapat melalui aerosol atau kontak langsung dengan orang yang terinfeksi. *Enterovirus* diketahui menyebar melalui rute fekal-oral, sedangkan virus polio (dapat menyebabkan gangguan pencernaan, demam dan kelumpuhan) menyebar melalui rute fekal-oral, sedangkan virus hepatitis B tersebar melalui kontak langsung dan transfusi darah.

Tabel 3. Beberapa Mikotoksin Yang Sering Mengkontaminasi Makanan

Mikotoksin	Kapang Penghasil	Penyakit yang disebabkan	Bahan Pangan Yang Sering Terkontaminasi
Aflatoksin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Kegagalan fungsi hati, kanker hati	Kacang tanah, kacang-kacangan lain, jagung serealia
Asam penisilat	<i>Penicillium cyclopium</i> , <i>P. mar-tensii</i> , <i>P. chraceus</i> , <i>P. melleus</i>	Pembentukan tomur, kerusakan ginjal	Jagung, barley, kacang-kacangan
Ergotoksin	<i>Claviceps purpurea</i>	Kerusakan hati	Serealia
Oktratoksin A	<i>A. ochraceus</i> , <i>A. Mellus</i> , <i>A. sulphureus</i> , <i>P. viridicatum</i>	Kerusakan hati	Jagung, kacang-kacangan, Barley
Patulin	<i>A. clavatus</i> , <i>P. Patulum</i> , <i>P. expansum</i>	Kerusakan hati, Kanker hati	Apel dan produk-produk apel (cider dan saus apel)
Alimentary Toxic aleukia	<i>Cladosporium spp.</i> , <i>Penicillium</i> ,	Kerusakan hati	Biji-bijian

(ATA)	<i>Fusarium, Mucor, Alternaria</i>		
Sterigmatosistin	<i>A. regulosus, A. Nidulans, A. Versicolor, P, luteum</i>	Sirosis hati, kanker hati	Gandum, oat
Zearalenon	<i>Gibberella zeae (Fusarium graminearum)</i>	Kerusakan hati	Jagung dan serelia
Luteoskyrin	<i>P. islandicum</i>	Nekrosis hati, Kanker hati	Tepung beras

Rotavirus juga merupakan virus yang penting dan secara sporadis dapat menyebabkan diare akut, demam dan seing kali muntah-muntah. Virus ini telah dilaporkan dapat menyebar melalui air.

Rickettsiae

Rickettsiae adalah bakteri yang berukuran kecil dan tidak pernah berhasil dikultivasi pada medium sintetik. Rickettsia berbeda dengan virus karena mikroorganismenya ini mempunyai DNA dan RNA mempunyai beberapa struktur yang dimiliki bakteri. *Coxiella burnetii*, penyebab demam Q, ditimbulkan oleh mikroorganismenya ini adalah sakit kepala dan demam. Penularannya melalui susu dari sapi yang terinfeksi. *C. burnetii* telah dilaporkan relatif tahan panas dan dapat membentuk spora, sehingga kemungkinan bisa terdapat pada susu pasteurisasi jika susu tersebut berasal dari sapi yang terinfeksi.

Prion

Prion menyebabkan penyakit degeneratif pada sistem syaraf pusat pada hewan dan manusia. Penyakit scrapie pada kambing merupakan penyakit yang ditimbulkan oleh prion. Penyakit yang sama juga telah ditemukan pada sapi, bovine spongiform encephalopathy (BSE). Prion tersebar melalui pakan dan penularan terhadap manusia kini mendapat perhatian yang serius. Prion sangat resisten terhadap panas, lebih tahan daripada spora bakteri dan merupakan bentuk protein yang abnormal dari inang. Pencegahan penularan melalui pencegahan pemberian pakan dari bahan-bahan yang terinfeksi dan pencegahan konsumsi daging dan bagian-bagian hewan yang terinfeksi.

Protozoa dan parasit

Giardia, Cryptosporidium, Balantidium, Entamoeba dan protozoa lainnya serta parasit seperti cacing pita, dapat menginfeksi melalui air dan makanan. Beberapa spesies dapat bertahan pada lingkungan untuk beberapa minggu dan dapat klorinasi. Gejala-gejala yang ditimbulkan dapat sama dengan gejala gangguan perut yang ditimbulkan oleh bakteri dan penularannya melalui rute fekal-oral.

Pada tabel 4 disajikan makanan-makanan yang dapat menjadi pembawa virus, protozoa dan parasit serta metode pengontrolan.

Tabel 4. Makanan-makanan yang Dapat Terinfeksi oleh Virus, Protozoa dan Parasit serta Pencegahannya

Organisme	Makanan yang dapat terinfeksi	Waktu inkubasi	Gejala penyakit	Pencegahan
Poliomyelitis	Susu minuman, Makanan olahan	5-35 hari	Demam, untah-muntah, sakit kepala, nyeri otot dan lumpuh	Kebersihan individu; kecukupan panas ma-kanan olahan; desenti-feksi air; pencegahan kontak makanan dengan lalat
Virus hepatitis	Susu dan minuman, kerang-kerangan mentah, salad	10-50 hari, rata-rata 25 hari	Kulit kuning, kehilangan nafsu makan, gangguan pencernaan	Pemasakan kerang-kerangan kerangan, kecukupan panas makanan olah-an, susu, perebusan air atau desinfeksi air, kebersihan individu
<i>Entamoeba histolytica</i> (disentri amoeba)	Air yang terkontaminasi limbah, makanan basah yang terkontaminasi feses	Beberapa hari sampai 4 minggu	diare	Perlindungan suplai air, sanitasi selama pengolahan, jamban yang memadai
<i>Taenia saginata</i> (cacing pita)	Daging sapi mentah atau setengah matang yang mengandung larva	Beberapa minggu	Sakit perut bagian bawah, perasaan lapar, lelah	Penyembelihan sapi dan penyediaan daging sapi dibawah pengawasan dinas kesehatan, daging dimasak matang
<i>Diphyllobothrium latum</i> (cacing pita)	Daging sapi mentah atau setengah matang yang mengandung larva	2-6 minggu	Gejala awal tidak ada, tetap penderita lanjut mengalami anemia	Ikan dimasak matang, hindari konsumsi ikan asap mentah
<i>Taenia solium</i>	Daging babi mentah atau setengah matang yang mengandung larva	Beberapa minggu	Gangguan pencernaan, malaise, encephalitis, bisa fatal	Penyembelihan babi dan penyediaan daging babi di bawah pengawasan dinas kesehatan, daging di masak matang
<i>Trichinella spiralis</i>	Daging sapi mentah atau setengah	Biasanya 9 hari, tetapi bisa	Pusing, muntah muntah, diare, nyeri otot, de-	Daging babi dimasak matang, bekukan daging

	matang yang mengan- dung larva	bervariasi 2-28 hari	mam,pembeng kakan kelopak mata, susah bernafas	babi pada suhu - 15°C selama 30 hari atau -23°C selama 20 hari atau -29°C selama 12 hari, hindari adanya tikus di sekitar kandang, pakan babi dimasak
--	--------------------------------	----------------------	--	---

1.3. Sumber-sumber Infeksi dan Pencegahannya

Beberapa makanan bisa dinyatakan "aman" untuk dikonsumsi, jika makanan-makanan tersebut diproses dengan proses dekontaminasi yang terkontrol dengan baik seperti pasteurisasi dan sterilisasi, seperti susu sterilisasi atau pasteurisasi, es krim dan makanan-makanan kaleng. Proses dekontaminasi air kemasan dilakukan dengan klorinasi dan filtrasi. Makanan lain seperti roti, tepung, jam, madu, piket, manisan buah termasuk makanan yang dinyatakan "aman" karena komposisi dan proses pengolahan makanan tersebut menyebabkan kondisi yang tidak mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Beberapa sifat makanan dan bahan pangan, seperti pH kurang dari 4,5, kadar air rendah ($a_w < 0.86$) atau kadar gula atau kadar garam yang tinggi.

Sifat-sifat ini biasa digunakan dalam pengawetan makanan.

Dewasa ini masyarakat lebih dianjurkan untuk mengkonsumsi makanan atau bahan pangan segar daripada makanan atau bahan pangan yang sudah diawetkan. Hal ini memberi kesempatan mikroorganisme untuk mengkontaminasi gangguan saluran pencernaan jika bahan pangan segar tersebut tidak ditangani dengan baik. Terdapat tiga jalur yang dapat digunakan oleh mikroorganisme untuk mengkontaminasi makanan, yaitu bahan baku dan ingredien, pekerja pada pengolahan makanan dan lingkungan pengolahan.

1.4. Bahan Baku dan Ingredien

a. Daging

Bahan pangan yang berasal dari hewan merupakan sumber utama bakteri penyebab infeksi dan intoksikasi (Tabel 5). Mikroorganisme yang terdapat pada hewan hidup dapat terbawa ke dalam daging segar dan mungkin bertahan selama proses pengolahan. Banyak hewan-hewan yang disembelih membawa mikroorganisme seperti *Salmonella* dan *Campylobacter*, selain mikroorganisme yang secara alami terdapat pada saluran pencernaan seperti *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica* dan *Listeria monocytogenes*. Proses pemotongan unggas secara kontinyu, meningkatkan penularan mikroorganisme dari karkas yang satu ke yang lainnya. Demikian juga penggilingan daging dalam pembuatan daging cincang dapat menyebarkan mikroorganisme, sehingga daging cincang merupakan produk daging yang beresiko tinggi.

b. Telur

Kulit telur kemungkinan mengandung *Salmonella* yang berasal dari kotoran ayam dan mungkin mengkontaminasi isi telur pada waktu telur dipecahkan. Di negara-negara Eropa terjadi peningkatan gangguan pencernaan karena infeksi oleh *S. enteritidis* yang berasal dari telur yang telah terinfeksi. Departemen kesehatan

Inggris memberikan peringatan terhadap penggunaan telur mentah pada makanan yang tidak mengalami pengolahan lebih lanjut.

c. Produk-produk Susu

Susu yang telah mengalami pengolahan yang benar, misalnya pasteurisasi dan sterilisasi, merupakan produk yang aman. Akan tetapi susu segar yang diperoleh dari hewan sehat bisa terkontaminasi dari hewan yang menyusui atau dari peralatan dan lingkungan pemerahan susu. Di Inggris telah dilaporkan keracunan makanan (Salmonellosis) karena mengkonsumsi susu sapi segar. Gangguan pencernaan juga kadang-kadang terjadi karena proses pemanasan susu tidak cukup. Produk-produk susu yang disiapkan dari susu yang tidak mengalami proses pemanasan merupakan produk yang potensial mengandung *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Yersenia enterocolitica monocytogenes*.

Pengasaman susu dan fermentasi susu dapat menghilangkan atau menghambat mikroorganisme patogen enterik, tetapi beberapa mikroorganisme masih bisa tahan. Walaupun susu telah mengalami pemanasan, kontaminasi dapat terjadi selama penanganan produk atau karena penambahan ingridien yang tidak mengalami perlakuan dekontaminasi. Adanya *L. monocytogenes* pada keju yang dimatangkan diduga karena rekontaminasi selama proses pembuatan dan penanganan keju.

d. Ikan dan Kerang-kerangan

Ikan dan kerang-kerangan dapat terkontaminasi dari lingkungan hidup ikan tersebut atau dari lingkungan pengolahan. Jika ikan tersebut diperoleh dari laut yang telah terkena polusi limbah, ikan tersebut kemungkinan terkontaminasi bakteri patogen. *Vibrio parahaemolyticus* adalah kontaminan yang umum terdapat pada ikan dan makanan laut lainnya terutama dari perairan Asia Timur. Bakteri ini dapat dihilangkan dengan pemanasan, akan tetapi sanitasi yang kurang baik dapat menyebabkan terjadinya rekontaminasi.

Dalam kerang-kerangan telah ditemukan mikroorganisme patogen seperti *Salmonella*, *E. coli*, *V. parahemolyticus*, *clostridia* dan virus. Bakteri dapat dihilangkan dengan cara ini kurang efektif untuk virus.

Tabel 5. Bahan Pangan Potensial Sebagai Sumber Mikroorganisme Patogen

Mikroorganisme	Bahan pangan
<i>Salmonella</i>	Daging ternak dan daging unggas mentah, susu segar dan telur
<i>Clostridium perfringens</i>	Daging ternak dan daging unggas, makanan kering, herbs, rempah-rempah, sayur-sayur
<i>Staphylococcus aureus</i>	Makanan dingin, produk-produk susu terutama jika menggunakan bahan baku susu mentah
<i>Bacillus cereus dan Bacillus ssp. lain</i>	Sereal, makanan kering, produk-produk susu, daging dan produk-produk daging, herbs, rempah-rempah, sayur-sayur
<i>Escherichia coli</i>	Bahan pangan mentah
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Ikan segar dan ikan olahan, kerang dan makanan laut lainnya
<i>Shigella</i>	Makanan campuran dan basah, susu, kacang-kacangan, kentang, tuna, undang, kalkun, salad, makaroni, cider apel
<i>Streptococcus</i>	Susu, es krim, telur, lobster, salad kentang, salad telur,

<i>pyogenes</i>	custard, puding dan makanan-makanan yang mengandung telur
<i>Clostridium botulinum</i>	Makanan kaleng dengan pH>4,6
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Daging ternak dan unggas mentah, produk olahan daging, susu dan produk susu dan sayur-sayuran
<i>Campylobacter jejuni</i>	Daging ternak dan daging unggas mentah, susu segar atau susu yang diolah tetapi pemanasannya kurang, air yang tidak diolah
<i>Listeria monocytogenes</i>	Daging ternak, daging unggas, produk susu, sayur-sayuran dan kerang-kerangan
<i>Virus</i>	Kerang mentah, makanan dingin yang ditangani oleh orang yang terkena infeksi

e. Buah-buahan, Sayur-sayuran dan Serealia

Dalam keadaan segar, bahan pangan nabati kemungkinan terkontaminasi oleh mikroorganisme dari tanah dimana tanaman tersebut tumbuh. Buah-buahan karena jauh dari tanah, kemungkinan untuk terkontaminasi lebih kecil dibandingkan dengan sayuran atau bahan pangan yang lain yang kontak langsung dengan tanah. Kebersihan saluran juga berpengaruh terhadap kualitas mikrobiologi pangan bahan pangan nabati. Penggunaan air dari irigasi yang tercemar dan penggunaan pupuk kandang atau kotoran manusia sebagai pupuk beresiko terhadap kontaminasi oleh salmonella (termasuk *S. typhi*), *Shigella* dan *V. cholerae* serta virus. Pencucian dan pembilasan dengan air yang mengandung semua bakteri kecuali spora.

f. Makanan kering

Bakteri yang dominan mengkontaminasi makanan kering adalah kelompok *Clostridium* dan *Bacillus*. Spora kedua bakteri ini dapat bertahan pada proses pengeringan. Penggunaan suhu pengeringan yang tidak bakterisidal, memungkinkan bakteri seperti salmonella dan *E. coli* tetap ada setelah pengeringan. Makanan-makanan yang demikian aman dalam keadaan kering, akan tetapi jika direhidrasi maka harus diperlakukan seperti halnya makanan segar. Karena herbs dan rempah-rempah seringkali terkontaminasi spora dalam jumlah banyak, maka penambahan ingredian harus dilakukan sebelum proses pemanasan.

Makanan siap santap

Makanan siap santap biasanya dijual dalam bentuk beku atau didinginkan. Makanan beku, selama masih beku dapat dinyatakan "aman" akan tetapi untuk makanan yang didinginkan harus diperhatikan umur simpannya. Mikroorganisme yang ditemukan pada makanan siap santap adalah mikroorganisme yang tahan proses pemanasan, Misalnya *Clostridium* dan *Bacillus* (Sporanya) dan mikroorganisme yang mengkontaminasi selama penanganan misalnya *Y. Enterocolitica* dan *I. Monocytogenes*. Kedua bakteri ini dapat tumbuh pada suhu rendah (Refrigerator). Dengan demikian dalam memproduksi makanan siap santap yang disimpan dingin harus diperhatikan sanitasi dan hingga selama pengolahan, kontrol suhu selama penyimpanan dan umur simpan produk.

BAB II

IDENTIFIKASI SEDERHANA MAKANAN BERISIKO TIDAK AMAN

2.1. Pendahuluan

Bahan pangan atau makanan disebut busuk atau rusak jika sifat-sifatnya telah berubah sehingga tidak dapat diterima lagi sebagai makanan. Kerusakan pangan dapat disebabkan oleh berbagai faktor, yaitu pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme, kerusakan karena serangga atau hewan pengerat, aktivitas enzim pada tanaman atau hewan, reaksi kimia nomenzimatik, kerusakan fisik misalnya karena pembekuan, hangus, pengeringan, tekanan, dan lain-lain.

Kerusakan atau kebusukan pangan juga merupakan mutu yang subyektif, yaitu seseorang mungkin menyatakan suatu pangan sudah busuk atau rusak, sedangkan orang lainnya menyatakan pangan tersebut belum rusak/busuk. Orang yang sudah biasa mengkonsumsi makanan yang agak basi mungkin tidak merasa bahwa makanan tersebut dari segi kesehatan mungkin sudah tidak layak untuk dikonsumsi.

Gejala keracunan sering terjadi karena seseorang mengkonsumsi makanan yang mengandung bahan-bahan berbahaya, termasuk mikroorganisme, yang tidak dapat dideteksi langsung dengan indera manusia. Bahan-bahan kimia berbahaya yang terdapat pada makanan sukar diketahui secara langsung oleh orang yang akan mengkonsumsi makanan tersebut, sehingga seringkali mengakibatkan keracunan. Mikroorganisme berbahaya yang terdapat di dalam makanan kadang-kadang dapat dideteksi keberadaannya di dalam makanan jika pertumbuhan mikroorganisme tertentu menyebabkan perubahan-perubahan pada makanan, misalnya menimbulkan bau asam, bau busuk, dan lain-lain. Akan tetapi tidak semua mikroorganisme menimbulkan perubahan yang mudah dideteksi secara langsung oleh indera kita, sehingga kadang-kadang juga dapat menimbulkan gejala sakit pada manusia jika tertelan dalam jumlah sangat kecil di dalam makanan. Jumlah yang sangat kecil ini tidak mengakibatkan perubahan pada sifat-sifat makanan.

2.2. Tanda-tanda Kerusakan Pangan

Berbagai tanda-tanda kerusakan pangan dapat dilihat tergantung dari jenis pangannya, beberapa diantaranya misalnya:

- **Perubahan kekenyalan** pada produk-produk daging dan ikan, disebabkan pemecahan struktur daging oleh berbagai bakteri.
- **Pelunakan tekstur** pada sayur-sayuran, terutama disebabkan oleh *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas marginalis*, dan *Sclerotinia sclerotiorum*.
- **Perubahan kekentalan** pada susu, santan, dan lain-lain, disebabkan oleh penggumpalan protein dan pemisahan serum (skim).
- **Pembentukan lendir** pada produk-produk daging, ikan, dan sayuran, yang antara lain disebabkan oleh pertumbuhan berbagai mikroba seperti kamir, bakteri asam laktat (terutama oleh *Lactobacillus*, misalnya *L. Viredences* yang membentuk lendir berwarna hijau), *Enterococcus*, dan *Bacillus thermosphacta*. Pada sayuran pembentukan lendir sering disebabkan oleh *P. marjinalis* dan *Rhizoctonia sp.*

- **Pembentukan asam**, umumnya disebabkan oleh berbagai bakteri seperti *Lactobacillus*, *Acinebacter*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *proteus*, *Microrocci*, *Clostridium*, dan enterokoki.
- **Pembentukan warna hijau** pada produk-produk daging, terutama disebabkan oleh:
 1. Pembentukan hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh *L. Viridescens*, *L. fructovorans*, *L.jensenii*, *Leuconostoc*, *Enterococcus faecium* dan *E.faecalis*
 2. Pembentukan hidrogen sulfida (H_2S) oleh *Pseudomonas mephita*, *Shewanell putrefaciens*, dan *Lactobacillus sake*.
- **Pembentukan warna kuning** pada produk-produk daging, disebabkan oleh *Enterococcus casslilavus* dan *E. mundtii*.
- **Pembentukan warna hitam** pada sayuran, misalnya oleh *Xanthomonas camprestis*, *Aspergillus niger*, dan *Ceratocystis frimbiata*.
- **Perubahan warna** pada biji-bijian dan serealialia karena pertumbuhan berbagai kapang, misalnya *Penicillum sp.* (biru-hijau), *Aspergillus sp.* (hijau), *Rhizopus sp.* (hitam), dan lain-lain.
- **Perubahan bau**, misalnya:
 1. timbulnya bau busuk oleh berbagai bakteri karena terbentuknya amonia, H_2S , Indol, dan senyawa-senyawa amin seperti diamin kadaverin dan putresin.
 2. Timbulnya bau anyir pada produk-produk ikan karena terbentuknya trimetilamin (TMA) dan histamin.

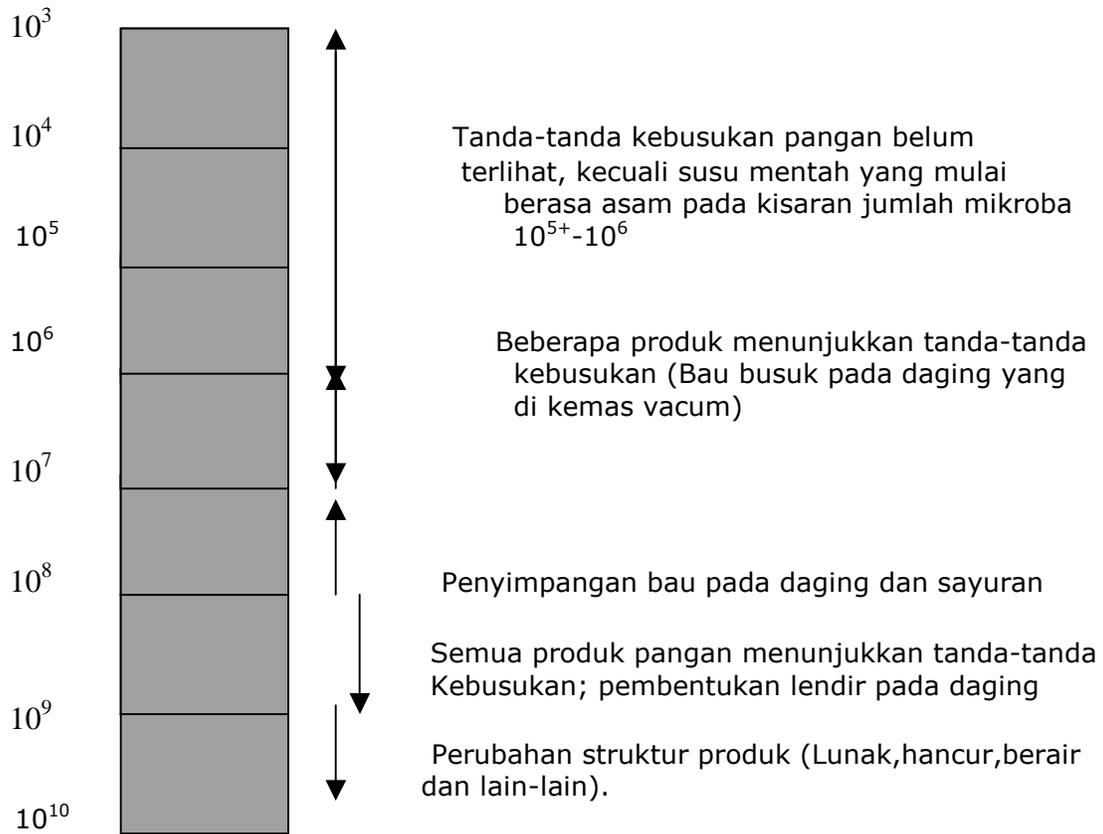
Tanda-tanda kerusakan tersebut diatas dapat menunjukkan perkiraan secara kasar jumlah mikroba yang terdapat di dalam bahan pangan seperti terlihat pada gambar 1.

3. Tanda-Tanda Kerusakan pada Daging dan Produk Daging

Kebusukan akan kerusakan daging ditandai oleh terbentuknya senyawa-senyawa berbau busuk seperti amonia, H_2S , indol, dan amin, yang merupakan hasil pemecahan protein oleh mikroorganisme. Daging yang rusak memperlihatkan perubahan organoleptik, yaitu bau, warna, kekenyalan, penampakan, dan rasa. Diantara produk-produk metabolisme dari daging yang busuk, kadaverin dan putresin merupakan dua senyawa diamin yang digunakan sebagai indikator kebusukan daging.

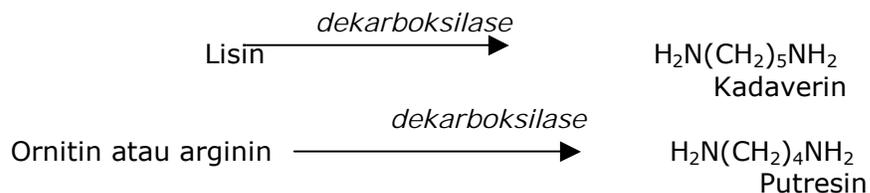
Jumlah Mikroba

Tanda-Tanda Kebusukan



Gambar 1. Hubungan Antara Jumlah Mikroba dengan Tanda-tanda Kebusukan pada Bahan Pangan.

Produk kadaverin dan putresin di dalam daging terjadi melalui reaksi sebagai berikut :

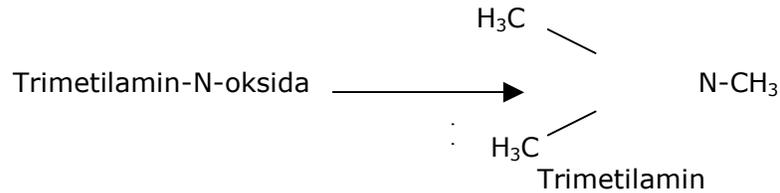


Peningkatan konsentrasi kadaverin dan putresin umumnya terjadi secara nyata jika jumlah total mikroba mencapai 4×10^7 koloni/g. Perubahan bau menyimpang (offodor) pada daging biasanya terjadi jika total bakteri pada permukaan daging mencapai $10^{7,0-7,5}$ koloni/cm², di ikuti dengan pembentukan lendir pada permukaan jika jumlah bakteri mencapai $10^{7,5-8,0}$ koloni/cm².

Putresin merupakan senyawa diamin yang diproduksi oleh pseudomonad, sedangkan kadaverin terutama diproduksi oleh Enterobacterales.

2.4. Tanda-Tanda Kerusakan pada Ikan dan Produk Ikan

Kerusakan pada ikan ditandai dengan terbentuknya trimetilamin (TMA) dari reduksi trimetilamin oksida (TMAO), sebagai berikut:



TMAO merupakan komponen yang normal terdapat di dalam ikan laut, sedangkan pada ikan yang masih segar TMA hanya ditemukan dalam jumlah sangat rendah atau tidak ada. Produksi TMA mungkin dilakukan oleh mikroorganisme, tetapi daging ikan juga mengandung enzim yang dapat mereduksi TMAO. Tidak semua bakteri mempunyai kemampuan yang sama dalam mereduksi TMAO menjadi TMA, dan reduksi tergantung dari pH ikan.

Histamin, diamin, dan senyawa volatil (*total volatile substances*) juga digunakan sebagai indikator kebusukan ikan. Histamin diproduksi dari asam amino histidin oleh enzim histidin dekarboksilase yang diproduksi oleh mikroorganismes:



Histamin merupakan penyebab keracunan scromboid. Seperti halnya pada daging, kadaverin dan putresin merupakan diamin yang juga digunakan sebagai indikator kebusukan ikan.

Senyawa volatil yang digunakan sebagai indikator kebusukan ikan termasuk TVB (total volatile bases), TVA (total volatile acids) TVS (total volatile substance), dan TVN (total volatile nitrogen). Yang termasuk TVB adalah amonia, dimetilamin, dan trimetilamin, sedangkan TVN terdiri dari TVB dan senyawa nitrogen lainnya yang dihasilkan dari destilasi uap terhadap contoh, dan TVS atau VRS (volatile reducing substance) adalah senyawa hasil aerasi dari produk dan dapat mereduksi larutan alkalin permanganat. Yang termasuk TVA adalah asam asetat, propionat dan asam-asam organik lainnya. Batas TVN maksimum untuk udang yang bermutu baik di Jepang dan Australia adalah 30 mg TVN/100g dengan maksimum 5 mg trimetilamin nitrogen/100g.

Untuk produk-produk laut seperti oyster, clam dan scallop, perubahan pH merupakan indikator kerusakan, yaitu pH 5,9-6,2 untuk produk yang masih baik, pH 5,8 sudah agak menyimpang, dan pH 5,2 atau kurang merupakan tanda kebusukan atau asam.

2.5. Tanda-Tanda Kerusakan pada Makanan Kaleng

Kerusakan makanan kaleng dipengaruhi oleh jenis makanan yang terdapat didalamnya dan mikroba perusak yang didalamnya (Tabel 1). Pada dasarnya makanan kaleng dibedakan atas tiga kelompok berdasarkan keasaman, yaitu:

1. Makanan kaleng berasam rendah (pH > 4,6), misalnya produk-produk daging dan ikan, suws, beberapa sayuran (jagung, buncis), dan masakan

yang terdiri dari campuran daging dan sayuran (lodeh, gudeg, opor, dan lain-lain).

2. Makanan kaleng asam (pH 3,7-4,6), misalnya produk-produk tomat, pear, dan produk-produk lain.
3. Makanan kaleng berasam tinggi (pH<3,7), misalnya buah-buahan dan sayuran kaleng seperti jeruk, piksel, sauerkraut, dan lain-lain.

2.6. Identifikasi Kerusakan Pangan

Kerusakan bahan pangan dapat dibedakan atas beberapa jenis yaitu:

1. Kerusakan fisik karena benturan, Sayatan, dan lain-lain.
2. Kerusakan kimia karena terjadinya reaksi kimia, baik enzimatis maupun non enzimatis, seperti ketengikan, pencoklatan, dan lain-lain.
3. Kerusakan biologis yang disebabkan oleh beberapa faktor yaitu:
 - Mikroorganisme perusak makanan (kapang, jamur dan bakteri).
 - Serangga perusak pangan.

Kerusakan bahan pangan dapat dideteksi dengan berbagai cara, yaitu:

1. Uji organoleptik dengan melihat tanda-tanda kerusakan seperti perubahan tekstur atau kekenyalan, kekentalan, warna bau, pembentukan lendir, dan lain-lain.
2. Uji fisik untuk melihat perubahan-perubahan fisik yang terjadi karena kerusakan oleh mikroba maupun oleh reaksi kimia, misalnya perubahan pH, kekentalan, tekstur, indeks refraktif, dan lain-lain.
3. Uji kimia untuk menganalisa senyawa-senyawa kimia sebagai hasil pemecahan komponen pangan oleh mikroba atau hasil dari reaksi kimia.
4. Uji mikrobiologis, yang dapat dilakukan dengan metode hitungan cawan, MPN, dan mikroskopis.

Uji mikrobiologi memerlukan banyak peralatan dengan persiapan dan uji yang cukup lama, oleh karena itu dianggap tidak praktis. Beberapa uji mikrobiologi telah dikembangkan dengan metode cepat, tetapi pada umumnya memerlukan peralatan yang mahal dan bahan kimia yang tidak mudah diperoleh. Beberapa uji kimia juga memerlukan bahan kimia yang tidak murah dengan waktu uji yang agak lama.

Dari berbagai uji kerusakan pangan tersebut di atas, beberapa uji yang di bawah ini dianggap cukup sederhana untuk diterapkan di daerah-daerah dengan fasilitas peralatan yang sederhana, yaitu:

1. **Uji organoleptik:** melihat tanda-tanda kerusakan masing-masing produk yaitu:
 - Perubahan kekenyalan/tekstur pada daging dan ikan.
 - Perubahan kekentalan (viskositas) pada produk-produk cair seperti susu, santan sari, buah, sup, kaldu, dan lain-lain.
 - Perubahan warna pada semua produk pangan.
 - Perubahan bau pada semua produk pangan.
 - Pembentukan lendir pada semua produk pangan berkadar air tinggi (daging, ikan, sayuran, sup, kaldu, dan lain-lain).
2. **Uji fisik,** yaitu:
 - Perubahan pH pada semua bahan pangan dan produk pangan
 - Perubahan viskositas (viskosimeter)
 - Perubahan indeks refraktif pada air daging
 - perubahan warna (chromameter)
 - Perubahan tekstur (teksturometer)

3. *Uji kimia*, yaitu:

- Uji H₂S
- Uji TMA
- Uji VRS
- Uji reduksi nitrat
- Uji katalase
- Uji reduksi warna (pada susu dan santan)
- Uji etanol (pada susu)

4. *Uji mikrobiologis*, yang paling sederhana dan cepat yaitu uji secara mikroskopis dengan menghitung jumlah mikroba.

Tabel 1. Tanda –tanda Kerusakan pada Makanan Kaleng

Mikroba perusak	Penampakan kaleng	Kerusakan/penampakan produk
1. Busuk asam (flat sour) Termofil: <i>Bacillus stearothermophilus</i>	Kaleng datar, kemungkinan kehilangan vakum selama penyimpanan	Penampakan biasanya tidak berubah: pH menurun (asam); bau agak menyimpang; kadang-kadang cairan menjadi keruh
2. Anaerob termofil <i>Clostridium thermosaccharolyticum</i>	Kaleng kembung, mungkin meledak	Produk mengalami fermentasi, bau asam, bau keju, atau bau butirat.
3. Kebusukan sulfida <i>C. nigrificans</i> <i>C. bifermentans</i>	Kaleng datar ; gas H ₂ S diserap oleh produk	Biasanya berwarna hitam; bau telur busuk.
4. Anaerob putrefaktif Mesofil P.A.3679 <i>C. botulinum proteolitik</i> <i>C. sporogenes</i> <i>C. putrefaciens</i>	Kaleng kembung; mungkin meledak	Tekstur rusak; pH sedikit diatas normal; bau busuk
5. Pembentuk spora aerob	Kaleng datar; biasanya tidak kembung pada daging + NO ₃ + gula	Koagulasi pada susu evaporai; warna hitam pada beet
Makanan kaleng Asam (pH 3,7-4,0):		
1. Busuk asam (Pada sari buah tomat) Termofil <i>B.thermoacidurans</i> (<i>B.coagulans</i>)	Kaleng datar; sedikit perubahan vacum	Sedikit perubahan pH; bau dan flavour menyimpang
2. Anaerob butirat (Pada tomat dan sari tomat) Mesofil <i>C.butyricum</i> . <i>C.pasteurianum</i>	Kaleng kembung; biasanya meledak	Produk mengalami fermentase; bau butirat
3. Bakteri tidak berspora (Kebanyakan bakteri laktat)	Kaleng kembung; biasanya meledak	Bau asam
Makanan kaleng berasam rendah (pH <3,7)		

1	.Leuconosto mesenteroides (Pada buah-buahan kaleng)	Kaleng kembang;	Produk berlendir
2	Byssochlamys fulva (Pada buahankaleng)	Kaleng datar	Tesktur buah-buahan menjadi lunak
3.	Kerusakan bakteri laktat pada sari buah jeruk : Lactobacillus plantarumvar. mobilis Leuconostoc mesenteroides L. dextranicum	Kaleng datar	Bau dan flavor cuka sampai bau buttermilk

2.7. Uji Reduksi Warna dengan Biru Metilen

Salah satu cara untuk menghitung jumlah sel di dalam contoh secara tidak langsung adalah dengan uji reduksi biru metilen. Uji reduksi biru metilen biasanya dilakukan terhadap susu, dan dapat memberikan perkiraan jumlah bakteri di dalam susu.

Contoh lainnya yang dapat diuji dengan cara pengujian biru metilen misalnya santan. Dalam uji ditambahkan sejumlah biru metilen ke dalam susu, kemudian diamati kemampuan bakteri di dalam susu untuk tumbuh dan menggunakan oksigen yang terlarut, sehingga menyebabkan penurunan kekuatan oksidasi-reduksi dari campuran tersebut. Akibatnya, biru metilen yang ditambahkan ke dalam contoh akan tereduksi menjadi berwarna putih. Waktu reduksi, yaitu perubahan warna biru menjadi putih dianggap selesai jika kira-kira empat per lima dari contoh susu yang terdapat di dalam tabung (sebanyak 10 ml) telah bewarna putih. Beberapa penelitian melaporkan perkiraan jumlah koloni yang diperoleh dengan metode cawan dengan waktu reduksi pada uji biru metilen pada susu (Tabel 2). Semakin tinggi jumlah bakteri di dalam contoh, semakin cepat terjadinya perubahan dari biru menjadi putih.

Tabel 2. Hubungan Antara Jumlah Koloni Menggunakan Metode Cawan dengan Waktu Reduksi dalam Jumlah Uji Biru Metilen

Waktu reduksi biru metilen (jam)	Perkiraan jumlah koloni ($\times 10^{-4}$ koloni/ml)
0,5 - 3,5	80 atau lebih
4	40
4,5	25
5	15
5,5	10
6	6
6,5 - 8	2,5
8	1

adalah karena Metode biru metilen merupakan cara yang lebih cepat dibandingkan dengan metode hitungan cawan yang memerlukan waktu beberapa hari untuk melihat hasilnya. Kelemahan metode biru metilen cara ini tidak praktis dilakukan terhadap susu yang mengandung bakteri dalam jumlah sedikit, karena dibutuhkan waktu yang terlalu lama untuk mereduksi biru metilen. Kelemahan lainnya adalah karena dalam uji biru metilen diperlukan waktu pengamatan yang terus menerus, yaitu yang paling sedikit selama enam jam. Dengan metode ini juga tidak dapat dibedakan jenis bakteri yang terdapat di dalam contoh, misalnya bakteri positif ayau negatif, bakteri pembentuk spora, kamir, dan sebagainya.

Pewarna lain yang dapat digunakan untuk uji reduksi warna dengan prinsip seperti biru metilen adalah resazurin, yang membutuhkan waktu reduksi lebih cepat daripada biru metilen. Dengan total bakteri di dalam contoh sebanyak $>10^7$ koloni/g dibutuhkan waktu kurang dari 2 jam untuk mereduksi resazurin, sedangkan dengan jumlah bakteri $1,8 \times 10^4$ koloni/g dibutuhkan waktu reduksi selama 5 jam.

2.8. Hitungan Mikroskopik

Perhitungan jumlah mikroba secara langsung menggunakan mikroskop sering digunakan untuk menganalisis susu mengandung bakteri dalam jumlah tinggi, misalnya susu yang diperoleh dari sapi yang terkena mastitis, yaitu suatu penyakit infeksi yang menyerang kelenjar susu sapi. Cara ini merupakan suatu cara cepat, yaitu menghitung tidak dapat diterapkan terhadap contoh (susu atau santan) yang telah mengalami pasteurisasi, karena secara mikroskopik tidak dapat dibedakan antara sel-sel bakteri yang masih hidup atau yang telah mati karena perlakuan pasteurisasi.

Dalam metode ini, luas areal pandang mikroskop yang akan digunakan harus dihitung terlebih dahulu. Hal ini dapat dilakukan dengan cara mengukur diameter areal pandang menggunakan mikrometer yang dilihat melalui lensa minyak imersi.

Untuk menghitung jumlah bakteri di dalam contoh, sebanyak 0,01 ml contoh dipipet dengan pipit Breed dan disebar di atas gelas obyek sehingga mencapai luas 1 cm^2 , kemudian didiamkan sampai kering, difiksasi, dan diwarnai dengan biru metilen.

Rata-rata jumlah bakteri per areal pandang mikroskop dihitung setelah mengamati 10 sampai 60 kali areal pandang, tergantung dari jumlah bakteri per areal pandang (Tabel 3).

Sel-sel yang mengumpul dalam suatu kelompok, dihitung jumlah sel yang terdapat di dalam kelompok tersebut, tetapi jika tidak mungkin dapat dihitung sebagai satu kelompok. Hasil perhitungan berdasarkan jumlah kelompok bakteri biasanya lebih mendekati hasil perhitungan jumlah bakteri menggunakan agar cawan. Pada sapi yang terserang mastitis, susunya biasanya mengandung sel-sel darah putih dalam jumlah tinggi. Setelah pewarnaan dengan biru metilen, sel-sel darah putih akan terlihat sebagai sel yang bulat atau berbentuk tidak teratur, berwarna biru dengan ukuran lebih besar daripada bakteri.

Tabel 3. Hubungan Jumlah Rata-rata Bakteri per Areal Pandang dengan Jumlah Areal Pandang yang Harus Diamati

Jumlah rata-rata bakteri per areal pandang	Jumlah areal pandang Yang harus diamati
<0,5	50
0,5 - 1	25
1 - 10	10
10 - 30	5
>30	Terlalu banyak untuk dihitung (TBUD), contoh harus diencerkan

Mikrometer yang digunakan untuk mengukur luas areal pandang mikroskop adalah mikrometer gelas obyek yang mempunyai skala terkecil 0,01 mm. Areal pandang mikroskop biasanya mempunyai ukuran 14-16 skala atau 0,14-0,16 mm. Beberapa mikroskop mungkin mempunyai ukuran diameter areal pandang lebih dari 0,18 mm.

Luas areal pandang mikroskop = πr^2 mm² atau = $\pi r^2 / 100$ cm². Nilai r adalah jari-jari areal pandang mikroskop. Karena jumlah contoh yang disebarkan pada gelas obyek seluas 1 cm² adalah 0,01 ml, maka:

Jumlah susu per areal pandang mikroskop = $\pi r^2 / 100 \times 0,01$ ml = $\pi r^2 / 10.000$ ml.

Dengan kata lain, untuk mendapatkan 1 ml contoh dapat diperoleh dari $10.000 / \pi r^2$ kali areal pandang mikroskop. Angka $10.000 / \pi r^2$ disebut juga faktor mikroskopik (FM), dan digunakan untuk mengubah jumlah bakteri per areal pandang mikroskop menjadi jumlah bakteri per ml sebagai berikut. Jumlah bakteri per ml contoh = $10.000 / \pi r^2 \times$ jumlah rata-rata.