

SKRIPSI

**TINGKAT PENCEMARAN COLIFORM DAN *ESCHERICHIA COLI*
PADA DAGING SAPI YANG DIJUAL DIBEBERAPA PASAR
TRADISIONAL DIWILAYAH KOTAMADYA SURABAYA**



OLEH :

SOEMARI
CARUBAN - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2001**

**TINGKAT PENCEMARAN *COLIFORM* DAN *ESCHERICHIA COLI* PADA
DAGING SAPI YANG DIJUAL DIBEBERAPA PASAR TRADISIONAL
DI WILAYAH KOTAMADYA SURABAYA**

Skripsi sebagai salah satu syarat
Untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh :

SOEMARI
069311964

Menyetujui,
Komisi Pembimbing



(Rr. Ratih Ratnasari, S.U., drh.)
Pembimbing Pertama

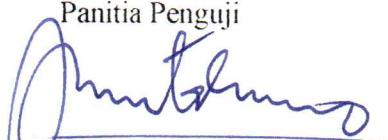


(Ajik Azmijah, S.U., drh.)
Pembimbing Kedua

Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat digunakan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,

Panitia Penguji

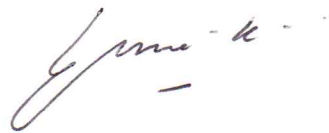

Dr. Hario Puntodewo S., M.App. Sc.

Ketua



Achmad Sadik, DTAH&P., drh.

Sekretaris



Erni R. Sabar Iman, M.S., drh.

Anggota



Rr. Ratih Ratanasari, S.U., drh.

Anggota



Ajik Azmijah, S.U., drh.

Anggota

Surabaya, 20 April 2001

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,



Dr. Ismudiono, M.S., drh.
NIP : 130 687 297

**TINGKAT PENCEMARAN *COLIFORM* DAN *ESCHERICHIA COLI*
PADA DAGING SAPI YANG DIJUAL DIBEBERAPA PASAR
TRADISIONAL DI WILAYAH KOTAMADYA SURABAYA**

Soemari

A B S T R A K

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui tingkat pencemaran *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya, serta membandingkan dengan standar yang telah dikeluarkan oleh Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan.

Sampel yang digunakan sebanyak 30 buah berupa daging sapi yang berasal dari pasar tradisional di wilayah Surabaya. Rancangan penelitian ini dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan enam perlakuan untuk daging sapi dan lima kelompok yang terdiri dari Surabaya timur, Surabaya barat, Surabaya pusat, Surabaya utara dan Surabaya selatan. Metode yang digunakan untuk penghitungan jumlah bakteri dengan cara Most Probable Number (MPN). Masing-masing sampel ditanam pada media Mac Conkey Broth (MCB) untuk menghitung jumlah bakteri *Coliform* sedangkan untuk menghitung jumlah bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan media Eosine Methylene Blue Agar (EMBA).

Hasil penelitian dari 30 sampel menunjukkan bahwa daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) terhadap jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* diantara kelima wilayah.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah penulis panjatkan rasa puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga dalam penulisan makalah kami dengan judul Tingkat pencemaran *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya dapat terselesaikan.

Daging sapi merupakan menu pokok yang sangat digemari bagi masyarakat di perkotaan karena mempunyai nilai gizi yang tinggi. Daging sapi dalam peredarannya banyak kita jumpai di pasar-pasar tradisional yang dijual dengan tidak memperhatikan kondisi lingkungan disekitarnya. Sehingga berbagai macam mikroorganisme dapat kontak langsung dengan daging.

Penulisan makalah ini dimaksudkan untuk memenuhi sebagian persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Dengan rasa hormat dan tulus pada kesempatan kali ini penulis menyampaikan ucapan rasa terima kasih kepada Bapak Dr. Ismudiono, M.S., drh. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan studi.

Pada kesempatan ini penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada Ibu Rr. Ratih Ratnasari, S.U., drh., selaku pembimbing pertama dan Ibu Ajik Azmijah, S.U., drh., selaku pembimbing kedua yang telah banyak

memberikan bimbingan, arahan, saran serta nasehat yang sangat bermanfaat untuk menunjang terselesainya penyusunan makalah ini.

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang tak terhingga kepada Petta, ibunda tercinta, mas Hasruddin, mbak Salem, Anna Mardiyah, mas Bidin, Aisyah, Wuyung Sari serta kedua adikku Siti Samsiah, Mappaendre yang selalu memberikan semangat dan motivasi serta dorongan.

Akhirnya penulis menyadari bahwa didalam penyusunan makalah ini masih belum sempurna, untuk itu dengan lapang dada penulis mengharapkan adanya saran dan kritik serta masukan-masukan yang sekiranya dapat membantu untuk melengkapi kekurangan yang ada. Demikian penulis berharap semoga hasil penelitian yang telah dituangkan didalam makalah ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu dunia kedokteran hewan.

Surabaya, April 2001

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar tabel	vi
Daftar Lampiran	vii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1. Latar belakang Permasalahan	1
I.2. Perumusan Masalah	3
I.3. Tujuan Penelitian	4
I.4. Landasan Teori	4
I.5. Manfaat Penelitian	5
I.6. Hipotesis Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1. Daging sapi dan komposisinya	6
II.2. Proses penyiapan daging sapi	7
II.3. Kontaminasi bakteri <i>Coliform</i> dan <i>Escherichia coli</i> pada daging sapi	8
II.4. Standar bakteri <i>Coliform</i> dan <i>Escherichia coli</i> untuk bahan makanan	10
II.5. Bakteri <i>Coliform</i> sebagai indikator adanya pencemaran tinja pada bahan makanan	11
II.6. Patogenesa bakteri <i>Coliform</i>	12
II.7. Mikrobiologi bakteri <i>Escherichia coli</i>	15

BAB III. MATERI DAN METODE	18
III.1. Waktu dan tempat penelitian	18
III.2. Bahan dan alat penelitian	18
III.3. Metode penelitian	18
III.3.1. Penyiapan sampel	19
III.3.2. Pemupukan pada media MCB	19
III.3.3. Pegujian terhadap bakteri <i>Coliform</i>	20
III.3.4. Pegujian terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	20
III.4. Analisis data	21
BAB IV. HASIL PENELITIAN	22
IV.1. Hasil pemeriksaan jumlah bakteri <i>Coliform</i>	22
IV.2. Hasil pemeriksaan jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
BAB V. PEMBAHASAN	24
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN	29
RINGKASAN	30
DAFTAR PUSTAKA	32

Daftar tabel

Tabel	Halaman
1. Jumlah maksimum bakteri pergram daging sapi	11
2. Jumlah Rataan dan Standar Deviasi hasil transformasi jumlah bakteri <i>Coliform</i> dalam daging sapi dari pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya	22
3. Jumlah Rataan dan Standar Deviasi hasil transformasi jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i> dalam daging sapi dari pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya	23

Daftar lampiran

Lampiran	Halaman
1. Pembuatan media Mac Conkey Broth	35
2. Pembuatan media Eosine Methylene Blue Agar	36
3. Pembuatan Tryptone water	37
4. Jumlah bakteri <i>Coliform</i> pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya	38
5. Hasil Transformasi $10^{\log(y)}$ jumlah bakteri <i>Coliform</i> pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya	39
6. Analisis Sidik Ragam jumlah bakteri <i>Coliform</i>	40
7. Jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i> pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya	42
8. Hasil Transformasi $10^{\log(y+1)}$ jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i> pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya	43
9. Analisis Sidik Ragam jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i>	44
10. Metode Most Probable Number	46
11. Tabel Mac Crady's	47

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang Permasalahan

Seiring dengan laju pertumbuhan penduduk di Indonesia khususnya di kota Surabaya, kebutuhan akan konsumsi protein hewani terutama daging sapi dari tahun-ketahun semakin meningkat. Perkembangan pembangunan di Indonesia yang semakin pesat disertai dengan peningkatan pendapatan perkapita, mengakibatkan terjadinya peningkatan menu kearah yang lebih mengutamakan bahan-bahan pangan yang banyak mengandung protein, terutama protein hewani, misalnya daging (Sosroamidjojo, 1980).

Menurut standar gizi nasional, konsumsi protein rakyat Indonesia adalah 55 gram perkapita perhari, yang meliputi 40 gram protein nabati dan 15 gram protein hewani. Dari 15 gram protein hewani tersebut, 10 gram berasal dari ikan dan 5 gram berasal dari ternak yaitu daging, susu dan telur (Anonimus, 1982). Berdasarkan kenyataan yang ada ternyata tingkat konsumsi nasional protein masih belum mencapai target yang diinginkan. Pada keadaan normal gizi yang seharusnya terpenuhi yaitu sebesar 4,5 gram perkapita pertahun di mana pada saat ini baru terpenuhi sekitar 3,39 gram perkapita pertahun (Anonimus, 1995).

Daging sebagai salah satu sumber protein hewani, merupakan bahan makanan yang disukai masyarakat karena mempunyai nilai gizi yang tinggi dengan kandungan asam-asam amino esensial yang lengkap dan seimbang. Setiap 100 gram daging dapat memenuhi kebutuhan gizi orang dewasa setiap

hari sekitar 10 persen kalori, 50 persen protein, 35 persen zat besi (Fe), 25-26 persen vitamin B complex (Forrest dkk, 1975).

Ada beberapa sumber kontaminasi yang secara jelas dapat dihilangkan bila karkas sudah meninggalkan Rumah Pemotongan Hewan (RPH), namun kontaminasi secara kontak langsung dengan tempat daging yang kurang higienis, pekerja dan bakteri dari udara tetap terjadi selama proses pengolahan, pengemasan, pengangkutan, penjualan dan pemasaran daging. Selain itu upaya perdagangan itu sendiri sebagian konsumen dan produsen daging sapi di Indonesia dalam melaksanakan transaksi perdagangan daging sapi di pasar tradisional masih belum menggunakan standar yang memadai (Lawrie, 1995).

Menurut Buckle dkk (1979) tingkat kontaminasi yang terjadi dapat diperiksa berdasarkan jumlah mikroorganisme tertentu yang terkandung pada daging sapi tersebut. Penggunaan indeks mikroorganisme sebagai penentu derajat sanitasi telah banyak dilakukan. Diantara beberapa mikroorganisme yang digunakan untuk maksud tersebut, bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* merupakan bakteri yang sering dipakai oleh banyak negara. Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* merupakan mikroorganisme yang secara normal di temukan dan hidup didalam saluran usus manusia dan hewan, sehingga secara umum juga di temukan pada tinja. Ditemukan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* merupakan petunjuk terhadap kemungkinan adanya bakteri usus patogen yang mungkin terdapat pada produk bahan makanan tersebut (Dey dan Dey, 1982).

Indonesia yang memiliki iklim tropis dengan temperatur 23-33⁰ C serta ditunjang dengan kondisi di pasar tradisional dan cara penjualan yang kurang higienis dimana tidak memperhatikan sanitasi lingkungan disekitarnya, maka bakteri akan mudah berkembang biak.

1.2. Perumusan Masalah

Masalah sanitasi dan higiene daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional masih kurang diperhatikan. Untuk mendapatkan daging sapi yang bermutu baik, masalah sanitasi tidak boleh diabaikan. Kondisi lingkungan yang kotor merupakan salah satu faktor untuk berkembangnya berbagai macam bakteri yang terdapat pada daging sapi. Dari berbagai macam bakteri yang dapat mencemari daging sapi adalah *Coliform* dan *Escherichia coli* yang disebut juga *Bacillus coli* atau *Colon bacillus*.

Berdasarkan uraian diatas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Apakah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dapat mencemari pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya.
2. Apakah terdapat perbedaan tingkat pencemaran dari bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dari masing-masing wilayah penjualan di Kotamadya Surabaya.

I.3. Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi.
2. Untuk mengetahui tingkat pencemaran bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya serta membandingkan dengan standar cemaran mikroba dalam daging dari Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan.

I.4. Landasan Teori

Daging sapi mempunyai arti dan peranan yang sangat penting yaitu menyangkut aspek gizi dan aspek ekonomi. Ditinjau dari aspek gizi, daging sapi merupakan bahan makanan dengan kandungan protein yang tinggi, kaya vitamin B kompleks, sumber yang baik bagi asam lemak dan asam amino esensial, serta mengandung mineral yang cukup lengkap (Abubakar, 1990).

Soeparno (1992) menyatakan bahwa lemak karkas dan kulit pada karkas sapi dapat melindungi daging dari kontaminasi mikroorganisme. Menurut Pelczar dan Chan (1988) bahan makanan yang mengalami proses penanganan yang kurang higienis mudah terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* dan kelompok *Coliform* lain sebagai indikator kontaminasi tinja yang dapat diandalkan. Soeparno dkk. (1984) menyatakan bahwa kandungan gizi yang tinggi pada daging sapi merupakan sumber nutrisi bagi pertumbuhan, perkembangan dan penyebaran bakteri. Kondisi pemasaran dan penyimpanan yang tidak baik akan semakin meningkatkan kontaminasi. Daging segar yang tidak diperlakukan dengan baik akan cepat rusak dan ini merupakan masalah yang serius dalam industri daging (Anonimus, 1994). Salah satu upaya memperpanjang masa simpan dan masa jual daging adalah dengan pendinginan, seperti dipasar swalayan. Frazier and Westhof (1988) berpendapat bahwa suhu -1° sampai -15° C dapat

menghambat kecepatan pertumbuhan dan kegiatan metabolisme bakteri perusak daging. Setiap penurunan suhu 8°C , kecepatan reaksi metabolisme bakteri akan berkurang setengahnya.

Dengan kondisi pasar yang sangat sederhana, dimana sanitasi lingkungannya tidak diperhatikan maka akan mendukung terjadi peningkatan kontaminasi dan jumlah bakteri pada daging. Penyebaran bakteri pada daging sapi dapat dipengaruhi oleh perlakuan terhadap daging, cara penyimpanan, pengangkutan dan cara penjualan daging sapi dipasar.

I.5. Manfaat Penelitian

Dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada konsumen dan masyarakat umum tentang tingkat pencemaran bakteri terutama *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di Kotamadya Surabaya. Melihat bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan berbagai macam penyakit, diharapkan dari hasil penelitian ini dapat di upayakan pencegahan pencemaran kuman tersebut.

I.6. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas maka dalam penelitian ini dapat diambil hipotesa sebagai berikut :

1. Daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya tercemar bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*.
2. Terdapat perbedaan tingkat pencemaran dari bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dari masing-masing wilayah penjualan di Kotamadya Surabaya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Daging dan komposisinya

Daging adalah semua jaringan hewan dan semua produk hasil pengolahan jaringan-jaringan tersebut yang memenuhi syarat untuk dimakan manusia, serta tidak menimbulkan gangguan kesehatan bagi yang memakannya. Tubuh ternak tersusun dari tiga tipe jaringan yaitu jaringan otot, jaringan ikat fibrous dan lemak. Otot dan jaringan ikat merupakan komponen utama karkas ternak (Soeparno, 1992). Gaman dan Sherrington (1992) menyatakan bahwa daging itu sendiri adalah bagian dari otot hewan, tersusun dari serat-serat kecil memanjang disatukan oleh jaringan ikat membentuk berkas ikatan. Lemak, pembuluh darah dan urat syaraf terdapat pada jaringan ikat, yang terletak diantara berkas-berkas ikatan serat.

Menurut Buckle dkk (1987) otot merupakan komponen utama penyusun daging. Secara umum komposisi otot menunjukkan adanya keragaman yang disebabkan oleh adanya perbedaan jenis, keturunan, jenis kelamin, umur, pengaturan gizi dan tempat otot tersebut dalam ternak. Otot tersusun atas banyak ikatan serabut otot yang disebut fasikuli, sedangkan serabut otot tersusun dari banyak fibril yang disebut myofibril. Myofibril tersusun dari banyak filamen dan disebut myofilamen (Soeparno, 1992). Myofilamen terdiri dari filamen tebal dan filamen tipis. Filamen tebal terdiri dari molekul-molekul protein kontraktile miosin yaitu filamen miosin. Filamen tipis terdiri dari molekul-molekul protein

aktin yang disebut juga filamen aktin (Forrest dkk, 1975). Sedangkan serabut otot itu sendiri mengandung lebih dari 50 persen protein myofibril. Myofibril mengandung 55-60 persen myosin dan kira-kira 20 persen aktin, 75 persen air, 19 persen protein, 3,5 persen substansi non protein yang larut dan 2,5 persen lemak (Soeparno, 1992; Lawrie, 1995).

II.2. Proses penyiapan daging sapi

Proses pemotongan hewan adalah kegiatan untuk menghasilkan daging yang terdiri dari pemeriksaan ante mortem, penyembelihan dan pemeriksaan post mortem (Anonimus, 1992). Pemeriksaan ante mortem adalah pemeriksaan kesehatan hewan potong sebelum disembelih dan pemeriksaan ini untuk mengetahui apakah hewan potong ini memenuhi persyaratan atau tidak untuk di sembelih (Blakely dan Bade, 1991). Hewan potong yang telah melewati pemeriksaan ante mortem langsung di bawa menuju tempat penyembelihan.

Daging dilarang diedarkan dan dikonsumsi apabila daging tersebut berbahaya bagi manusia karena mengandung penyakit. Penyakit tersebut diantaranya: (1)Tuberculosis, (2)Rabies, (3)Tetanus, (4)Anthrax, (5) Botulismus, (6)Salmonellosis, (7)Cysticercosis, dan lain-lainnya (Anonimus, 1992). Proses penyembelihan dapat dilakukan dengan pemingsanan atau tanpa pemingsanan terlebih dahulu (Anonimus, 1992). Setelah hewan potong yang disembelih tidak bergerak dan darah menjadi berhenti mengalir, kemudian dilakukan proses penyelesaian penyembelihan, sebagai berikut: (1) memisahkan kepala dan kaki, (2) melakukan pengulitan tubuh, (3) mengeluarkan isi perut dan dada serta

membagi ternak menjadi dua bagian (Blakely dan Bade, 1992). Setelah dilakukan penyelesaian penyembelihan dilakukan pemeriksaan post mortem.

Pemeriksaan post mortem yang dimulai dengan pemeriksaan secara sederhana yang meliputi (1) pemeriksaan organoleptis dan (2) pemeriksaan dengan cara melihat, meraba dan menyayat. Apabila berdasarkan pemeriksaan sederhana tersebut terdapat kelainan diperlukan pemeriksaan secara mendalam, antara lain adalah pemeriksaan mikrobiologis dan parasitologi. Berdasarkan hasil pemeriksaan post mortem ini dapat dinyatakan apakah daging tersebut dapat dikonsumsi, diproses lebih lanjut atau tidak dikonsumsi (Anonimus, 1992; Soeparno, 1992).

II.3. Kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi

Kontaminasi dapat terjadi melalui infeksi hewan hidup (penyakit endogenous) dan kontaminasi daging secara langsung (penyakit exogenous). Kontaminasi daging secara langsung lebih besar kemungkinan terjadinya daripada infeksi hewan hidup. Sedangkan kontaminasi daging dari luar mungkin terjadi secara terus-menerus sejak dari penyembelihan sampai dikonsumsi (Lawrie, 1995). Spesies bakteri yang umum terdapat pada daging segar adalah *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Mikrokokus*, *Enterokokus* dan *Coliform* (Pelczar dan Chan, 1988).

Menurut Buckle dkk (1987) jumlah dan jenis bakteri yang mencemari karkas ditentukan oleh perlakuan sebelum penyembelihan dan tingkat pengendalian higienis yang dilaksanakan selama penyembelihan dan pembersihan

karkas. Jika jumlah bakteri mencapai 10^7 sampai 10^8 koloni persentimeter persegi akan terbentuk lendir, daging berbau busuk dan rusak atau tidak layak untuk dijual. Kontaminasi daging diawali oleh adanya mikroorganisme yang memasuki peredaran darah saat penyembelihan, jika alat-alat yang digunakan untuk pengeluaran darah tidak steril (Soeparno, 1992). Libby (1975) menyatakan bahwa selain adanya faktor dari luar yang berpengaruh terhadap timbulnya kontaminasi, zat yang terkandung dalam daging merupakan media yang sangat baik untuk perkembangbiakan kuman, baik patogen maupun non patogen. Faktor-faktor dalam daging yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme diantaranya adalah : sumber nitrogen yang berasal dari protein sebesar 18 persen, abu (mineral) sebanyak 0,9 persen, vitamin-vitamin seperti Thiamin sebesar 0,08 mg/100g, Riboflavin 0,16 mg/100g, Niacin 4,3 mg/100g, air sebesar 60,1 persen, lemak 21,0 persen sedangkan pH yang dibutuhkan berkisar 5,5-6,8 (Field, 1975).

Ada beberapa hal yang perlu untuk diperhatikan dalam penanganan daging yang sehat yaitu pemeriksaan ante mortem dan post mortem yang teliti, pemeriksaan ulang setelah pemotongan, pengawasan terhadap sanitasi dan penyediaan air bersih yang memadai serta pengawasan terhadap kondisi daging yang aman untuk dikonsumsi atau harus diafkir (Field, 1975).

II.4. Standar bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* untuk bahan makanan

Beberapa badan dibawah naungan Perserikatan Bangsa-Bangsa telah mengatur suplai pangan dunia, termasuk mutu kesehatan pangan. Badan-badan tersebut antara lain: Organisasi Pangan dan kesehatan dunia atau Food and Agriculture Organization (FAO) dan organisasi kesehatan dunia atau World Health Organization (WHO). Badan-badan internasional dan tiap-tiap negara telah mendirikan lembaga untuk pengawasan standar, peraturan dan inspeksi pangan. Usaha ini untuk membantu memastikan bahwa suatu bahan pangan itu murni, tidak berbahaya bagi kesehatan dan memenuhi persyaratan mutu (Pelczar dan Chan, 1988).

Hampir semua negara mempunyai peraturan dan undang-undang kesehatan masyarakat. Undang-undang tersebut dirancang untuk menghambat praktek yang tidak higienis dalam penanganan daging khususnya dan bahan makanan pada umumnya (Lawrie, 1995). Standar bakteri *Coliform* untuk air minum, susu dan beberapa jenis bahan makanan untuk tiap negara berbeda-beda, tergantung dari kondisi setempat, untuk Australia peraturan yang berlaku adalah sebagai berikut : jumlah bakteri *Coliform* untuk susu segar tidak boleh lebih dari 10 kuman/ml, untuk ikan segar, kepiting, dan daging tidak boleh lebih dari 100 kuman/g (Jay, 1978 dan Buckle *et al.*, 1979).

Kondisi bakteriologis untuk menentukan kualitas daging segar yang diinginkan sebagai standar di Belanda adalah *Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* dan perhitungan total bakteri aerob (Gracey, 1981). Sedangkan di Indonesia yang digunakan standar adalah berdasarkan surat keputusan Dirjen

Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan RI (1985). Persyaratan sementara cemaran mikroba dalam makanan untuk daging sapi segar jumlah maksimum bakteri yang masih diperbolehkan secara rinci pada tabel dapat dilihat.

Tabel 1. Jumlah maksimum bakteri pergram daging sapi (menurut ketentuan Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan Departemen Kesehatan RI, 1985).

Angka Lempeng Total	10^6
MPN <i>Coliform</i>	10^2
<i>Escherichia coli</i>	10
<i>Salmonella sp.</i>	Negatif
<i>Clostridium perfringens</i>	10^2

II.5. Bakteri *Coliform* sebagai indikator adanya pencemaran tinja pada bahan makanan

Bakteri yang mengkontaminasi daging bila dibiarkan pada suhu pertumbuhan yang sesuai, jumlahnya makin bertambah banyak dan akan menurunkan kualitas daging (Buckle *et al.*, 1987). Dengan adanya bakteri ini dalam suatu bahan makanan menandakan bahwa bahan makanan ini telah terkontaminasi oleh bakteri fekal yaitu bakteri yang bersama tinja atau feses. Adanya bakteri *Coliform* fekal dan *Escherichia coli* didalam bahan makanan sangat tidak diharapkan (Simanjuntak, 1980; Suriawiria, 1986).

Bakteri *Coliform* adalah mikroorganisme intestinal yang terkandung dalam jumlah yang banyak pada tinja manusia, mamalia, unggas dan ikan. Didapatkannya mikroorganisme ini didalam air minum atau bahan makanan, merupakan indikator adanya pencemaran tinja (Bailey dan Scott, 1974). Jay

(1978) menyatakan bahwa bakteri *Coliform* mampu tumbuh dengan baik pada media dan berbagai jenis makanan serta masih dapat tumbuh pada suhu -2°C sampai 50°C dengan pH 4,4 sampai 9. Disamping itu bakteri *Coliform* mampu tumbuh dalam media yang mengandung garam empedu, karena sifat garam empedu akan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Kemampuan untuk memfermentasi laktosa dapat digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri *Coliform*.

Bakteri *Coliform* merupakan kelompok bakteri yang terdiri atas berbagai genera yaitu *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* dan *Citrobacter*. Penyebarannya di alam sangat luas, namun lebih banyak terdapat dalam usus manusia dan binatang berdarah panas, untuk membedakan antara bakteri *Coliform* yang berasal dari tinja dan yang bukan dari tinja adalah dengan menginkubasi sampel pada suhu 44°C . Kelompok bakteri yang tumbuh pada suhu ini merupakan kelompok bakteri yang berasal dari tinja (Jawetz *et al.*, 1986; Ruyitno, 1992).

II.6. Patogenesa bakteri *Coliform*

Bakteri *Coliform* merupakan sebagian besar flora aerobik usus normal. Di dalam usus, umumnya kuman ini tidak menyebabkan penyakit dan dapat membantu fungsi normal dan nutrisi. Organisme ini menjadi patogen hanya bila mencapai jaringan diluar saluran pencernaan, khususnya saluran air kemih, saluran empedu, paru-paru, peritoneum atau selaput otak, menyebabkan

peradangan pada tempat-tempat tersebut. Bila daya tahan tubuh normal terganggu, khususnya pada bayi yang baru lahir, pada usia tua, pada stadium terminal penyakit-penyakit lain, setelah penekanan imun atau dengan katerisasi vena atau urethra yang terus-menerus kuman *Coliform* dapat mencapai aliran darah dan menyebabkan sepsis (Jawetz, *et al.*, 1986). Sifat kemampuannya untuk memfermentasi laktosa, dipakai sebagai dasar untuk membedakan antara kelompok bakteri *Coliform* dengan kelompok *Enterobacteriaceae* lain yang bersifat patogen (Cordash dan Insalata, 1978). Daya atau kecepatan bakteri dalam memfermentasi laktosa menentukan patogenitas bakteri *Coliform*, makin cepat memfermentasi laktosa makin tinggi patogenitasnya. Seluruh genera yang termasuk dalam anggota *Coliform* merupakan satu famili *Enterobacteriaceae* (Jawetz *et al.*, 1980). Anggota kelompok bakteri *Coliform* diantaranya :

a. *Escherichia*

Bakteri *Escherichia coli* pada keadaan tertentu dapat mengalahkan mekanisme pertahanan tubuh sehingga dapat tinggal didalam blader (Cystitis), pelvis (Pyelitis), ginjal dan hati, merupakan penyebab diare, septikemia, peritonitis, meningitis (Suriawiria, 1986). Strain-strain tertentu dapat menyebabkan gastroenteritis pada manusia dan hewan serta sebagai penyebab Food Borne Disease yang cukup penting setelah *Shigella*, *Salmonella* dan *Vibrio cholerae* (Oshashi, 1983; Pelczar dan Chan, 1988).

b. *Klebsiella*

Sering ditemukan dalam tanah, rumput dan debu juga dalam feses individu normal kira-kira lima persen dari jumlah *Coliform* yang ada, serta tiga persen

diantaranya adalah *Klebsiella pneumoniae* yang merupakan bakteri patogen penyebab infeksi paru-paru, tetapi dapat juga menyerang sistem perkemihan. Strain *Klebsiella pneumonia* mampu memproduksi enterotoksin yang bersifat tahan panas, dimana jika terdapat pada saluran usus dapat merangsang timbulnya penyakit diare (Jawetz *et al.*, 1986).

c. *Edwarsiella*

Kelompok bakteri ini jarang diperhatikan karena patogenitasnya paling rendah dan jarang merugikan induk semang, dapat menyebabkan enteritis dan sepsis (Cowan, 1974, Jawetz *et al.*, 1986).

d. *Enterobacter*

Bakteri *Enterobacter* mempunyai kemampuan hidup di alam terbuka sebaik dalam saluran pencernaan, bakteri ini sering dihubungkan dengan gastroenteritis, dan terkadang sebagai penyebab infeksi saluran perkemihan pada sapi. Infeksi yang disebabkan oleh *Enterobacter aerogenes* lebih kecil bila dibandingkan dengan bakteri *Escherichia coli* (Cowan, 1974; Jawetz *et al.*, 1980).

e. *Citrobacter*

Spesies yang paling banyak ditemukan dalam usus atau saluran pencernaan manusia dan hewan serta dapat menyebabkan enteritis. *Coliform* ini dapat menyebar dengan cara masuk dalam aliran darah sehingga menimbulkan sepsis (Jawetz *et al.*, 1974).

f. Serratia

Grup ini biasanya hidup bebas dan banyak ditemukan dalam tanah, air dan tumbuh-tumbuhan. Pada kondisi yang memungkinkan dapat menyebabkan enteritis, dapat menyebabkan pneumonia, bakterimia dan endokarditis khususnya pada pecandu narkoba dan penderita yang dirawat di rumah sakit (Cowan, 1974, Jawetz *et al.*, 1986).

g. Paracolon

Bakteri ini disebut juga bakteri *Arizona* atau *Hafnia*. Patogenitas bakteri ini lemah, sering ditemukan pada reptil, unggas, tikus, kelinci, babi hutan dan manusia pada daerah colon (Merchant *et al.*, 1967).

II.7. Mikrobiologi bakteri *Escherichia coli*

Escherichia coli dikenal juga sebagai *Bacillus coli* atau *Bakterium coli*, pertama kali berhasil diisolasi oleh Escherich pada tahun 1895, dari tinja bayi. *Escherichia coli* berbentuk batang pendek. Ukuran *Escherichia coli* antara 2 sampai 4 mikron. Mempunyai sifat Gram negatif, motil dengan adanya flagella, meskipun ditemukan pula beberapa kuman yang bersifat non motil (Cruickshank *et al.*, 1975; Dey dan Dey, 1982). Bakteri ini dapat dibedakan dengan *Enterobacteriaceae* yang lain melalui uji biokimia, terutama pembentukan gas dari glukosa dan dapat memfermentasi laktosa. Untuk membedakan dengan *Enterobacter aerogenes* yang juga membentuk gas dari glukosa dan memfermentasi laktosa maka dapat dilakukan uji biokimia yaitu dengan Indol Methyl red Voges proskauer and Citrat (IMVC). *Escherichia coli* positif terhadap

Indol dan Methyl red, tetapi negatif terhadap Voges proskauer dan Citrat, sedangkan *Enterobacter aerogenes* sebaliknya (Jo Baron *et al.*, 1994).

Hasil laporan World Health Organization (WHO) pada tahun 1980, secara umum ada tiga strain *Escherichia coli* yang sering kali menimbulkan wabah diare, yaitu : Enterotoxigenic *Escherichia coli*, yang memproduksi enterotoxin didalam saluran usus dan merupakan penyebab diare pada bayi, anak-anak dan dewasa di negara-negara berkembang yang sistem sanitasinya masih sangat buruk, serta penyebab travellers diarrhea (diare yang menyerang turis). Enterotoxin yang diproduksi oleh *Escherichia coli* dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu : Enterotoxin yang tahan panas disebut Stabile Toxin (ST) dan Enterotoxin yang tidak tahan panas disebut Labile Toxin (LT). ST masih aktif setelah pemanasan pada suhu 100°C selama 30 menit. Bakteri yang bersifat Enterotoxigenic memproduksi salah satu atau kedua macam toxin tersebut. Kedua, adalah Enteropathogenic *Escherichia coli*, strain ini merupakan penyebab wabah diare pada anak-anak dan yang ketiga adalah Enteroinvasive *Escherichia coli*, penyebab diare yang mempunyai gejala klinis mirip dengan yang disebabkan oleh *Shigella* (Solitys, 1979; Anonimus, 1984; Fardiaz, 1993). Media selektif yang sering digunakan adalah Eosine Methylene Blue Agar (EMBA). Pada media ini bakteri akan tumbuh membentuk koloni dalam waktu 24 sampai 48 jam pada suhu 37°C . *Escherichia coli* membentuk koloni yang berwarna hijau metalik dengan pusat koloni berwarna kehitaman dan mempunyai diameter 2 sampai 4 mikron. Berdasarkan sifat serologisnya, *Escherichia coli* mempunyai tiga macam antigen

yaitu antigen somatik (O), antigen kapsul (K) dan antigen flagella (H). Antigen "O" dan sebagian "K" bersifat tahan panas, sedangkan antigen "H" tidak tahan panas (Solitys, 1979 ; Anonimus, 1984).

BAB III

MATERI DAN METODE

III.1. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan pada tanggal 10 sampai dengan 17 April 2000 di Balai Laboratorium Kesehatan Daerah jalan Karang Menjangan 18 Surabaya.

III.2. Bahan dan alat penelitian

a. Bahan penelitian

Sampel yang digunakan berupa daging sapi yang diperoleh dari beberapa pasar tradisional di wilayah Surabaya timur, Surabaya barat, Surabaya pusat, Surabaya utara dan Surabaya selatan.

Sedangkan media yang digunakan adalah : Eosine Methylene Blue Agar (EMBA), Mac Conkey Broth (MCB), Tryptone water.

b. Peralatan yang digunakan

Inkubator, Autoclave, pipet steril, tabung reaksi, tabung Durham, mortir, pinset, ose, timbangan, mixer, cawan Petri.

III.3. Metode penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan sampel sebanyak 30 buah, berupa daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya. Masing-masing wilayah diambil sebanyak enam sampel. Dimana untuk wilayah Surabaya timur diwakili oleh pasar : Gubeng, Pucang,

Manyar dan Jojoran, wilayah Surabaya barat diwakili oleh pasar : Suko Manunggal, Banyu Urip dan Benowo, wilayah Surabaya pusat diwakili oleh pasar : Genteng, Pecindilan dan Pasarkembang, wilayah Surabaya utara diwakili oleh pasar : Ampel, Sidotopo, Benteng, Krembangan dan Pegirian, wilayah Surabaya selatan diwakili oleh pasar : Wonokromo, Jagir dan Ketintang.

Masing masing sampel dimasukkan kedalam kantong plastik steril, kemudian dilakukan pengujian dengan menggunakan cara Most Probable Number (MPN) yang selanjutnya diinterpretasikan dengan menggunakan tabel Mc. Crady's.

III.3.1. Penyiapan sampel

30 sampel daging sapi masing-masing dibuat dengan tiga seri pengenceran yaitu : 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . Cara pembuatannya pada pengenceran 10^{-1} adalah dengan cara melarutkan 1g sampel kedalam 9,9 ml larutan NaCl fisiologis, untuk pengenceran 10^{-2} yaitu dengan cara mengambil sebanyak 0,1 ml pada pengenceran pertama lalu dilarutkan kedalam 9,9 ml NaCl fisiologis, demikian juga untuk pengenceran 10^{-3} .

III.3.2. Pemupukan pada media MCB

Pada pemupukan ini masing-masing sampel disediakan sebanyak 15 tabung reaksi yang sudah diisi dengan 10 ml media MCB dan tabung Durham dengan posisi terbalik. Tabung reaksi tersebut dibagi menjadi tiga kelompok,

masing-masing kelompok terdiri dari lima tabung reaksi. Cara pemupukannya adalah dengan menambahkan sebanyak 1 ml sampel kedalam tiap-tiap tabung reaksi dengan menggunakan pipet steril. Setiap pemupukan pada tabung reaksi diberi label, kemudian diinkubasi dengan menggunakan temperatur 37°C selama 24-48 jam. Setelah diinkubasi, satu persatu pada tabung reaksi dari setiap pengenceran diperiksa. Kemudian dilakukan pencatatan terhadap jumlah tabung reaksi yang menunjukkan positif. Pada tabung reaksi yang positif ditandai dengan adanya perubahan warna dari merah jernih menjadi kuning keruh, serta terbentuk adanya gas didalam tabung Durham. Adanya reaksi positif menunjukkan golongan kuman yang memfermentasikan laktosa yaitu bakteri *Coliform*.

III.3.3. Pengujian terhadap bakteri *Coliform*.

Tabung yang positif pada media Mc. Conkey broth dipindahkan dengan cara streak dengan menggunakan ose pada media Eosine Methylene Blue Agar (EMBA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Identifikasi koloni khas *Coliform*, yang berwarna hitam atau bagian tengah berwarna gelap dengan bagian tepi transparan. Jumlah tabung dari setiap pengenceran yang menghasilkan koloni khas bakteri *Coliform* pada media EMBA kemudian dicatat.

III.3.4. Pengujian terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Semua tabung yang positif diinokulasikan pada media Mc. Conkey broth kedalam 10 ml media Mc. Conkey broth dan diinkubasikan pada suhu $44,5^{\circ}\text{C}$ - 45°C

C selama 24-48 jam. Setiap tabung yang menunjukkan adanya gas, diduga positif bakteri *Escherichia coli*. Kemudian dilakukan identifikasi koloni khas tersebut pada Tryptone water (setiap area pada satu tabung) dan diinkubasikan pada suhu $44,5^{\circ}\text{C}$ - 45°C selama 24 jam untuk meyakinkan bahwa koloni tersebut benar-benar bakteri *Escherichia coli*. Lalu dilakukan tes Indol pada setiap tabung dengan meneteskan reagen Kovack. Bila positif akan terlihat cincin merah muda.

Cara penghitungan koloni khas *Escherichia coli* yang tumbuh pada setiap area dihitung satu atau dengan menghitung tabung triptone water yang positif tiap pengenceran. Kemudian diinterpretasikan dengan tabel Mc. Crady's (Hario, 1989).

III.4. Analisis data

Pada penelitian ini, digunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan cara wilayah Surabaya di bagi menjadi lima yang digunakan sebagai kelompok dan tiap wilayah diambil sebanyak enam buah sampel sebagai perlakuan. Data jumlah bakteri *Coliform* ditransformasikan ke $\log(y)$ dan data bakteri *Escherichia coli* ditransformasikan ke $\log(y+1)$. Hasil transformasi diolah dengan analisis sidik ragam, untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan rata-rata tiap kelompok perlakuan (Kusriningrum, 1989).

BAB IV

HASIL PENELITIAN

Hasil pemeriksaan uji bakteriologis terhadap bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*, dari 30 buah sampel berupa daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Surabaya timur, Surabaya barat, Surabaya pusat, Surabaya utara dan Surabaya selatan dengan menggunakan metode MPN yang diinterpretasikan pada tabel Mc. Crady's didapatkan hasilnya sebagai berikut :

IV.1. Hasil pemeriksaan jumlah bakteri *Coliform*

Data yang diperoleh dari penghitungan jumlah bakteri *Coliform* dalam daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional dapat dilihat pada Lampiran 4. Data hasil transformasi dapat dilihat pada Lampiran 5, sedangkan jumlah rata-rata hasil transformasi log y dapat dilihat pada Tabel 2 di bawah ini :

Tabel 2. Jumlah Rataan dan Standar Deviasi hasil transformasi jumlah bakteri *Coliform* dalam daging sapi dari pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya.

Tempat penjualan Daging sapi (pasar)	Sampel	
	Daging sapi log	
Tradisional	13,7782	± 0,7450

Data pada Lampiran 5. Hasil transformasi ke log y dianalisis dengan sidik ragam (uji F), hasil uji F pada lampiran 6, menunjukkan bahwa tempat penjualan

tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p>0,05$) terhadap jumlah bakteri *Coliform* diantara lokasi penjualan daging sapi.

IV.2. Hasil pemeriksaan jumlah bakteri *Escherichia coli*

Data yang diperoleh dari penghitungan jumlah bakteri *Escherichia coli* dalam daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional dapat dilihat pada Lampiran 7. Data hasil transformasi dapat dilihat pada Lampiran 8, sedangkan jumlah rata-rata hasil transformasi $\log(y+1)$ dapat dilihat pada Tabel 3 di bawah ini

Tabel 3. Jumlah Rataan dan Standar Deviasi Hasil Transformasi Jumlah bakteri *Escherichia coli* dalam daging sapi dari pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya.

Tempat penjualan Daging sapi (pasar)	Sampel		
	Daging sapi log y+1		
Tradisional	1,0796	±	0,5842

Data pada Lampiran 8. Hasil transformasi ke $\log(y+1)$ dianalisis dengan sidik ragam (uji F), hasil uji F pada lampiran 9, menunjukkan bahwa tempat penjualan tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p>0,05$) terhadap jumlah bakteri *Escherichia coli* diantara lokasi penjualan daging sapi.

BAB V

PEMBAHASAN

Bahan pangan asal hewan seperti daging sapi mudah rusak, sehingga harus hati-hati selama penanganannya, kerusakan atau kemunduran kualitas terjadi setelah pengeluaran darah sebagai akibat dari proses mikrobiologis, fisik dan kimia. Jika proses-proses ini tidak dibatasi maka tidak baik untuk dikonsumsi. Kerusakan harus dibuat seminimal mungkin dengan mempertahankan kualitas daging dalam waktu cukup lama (Soeparno, 1992). Pemeriksaan kualitas daging mempunyai kedudukan yang sangat penting apabila ditinjau dari sudut kesehatan, karena daging merupakan salah satu sumber protein hewani yang sangat dibutuhkan. Disamping itu, daging juga dapat merupakan sumber penyakit yang dapat ditularkan melalui daging (Meat borne disease). Hal ini disebabkan karena daging banyak mengandung zat-zat yang berguna bagi perkembangan biakan mikroorganisme penyebab penyakit (Hario, 1998).

Data yang diperoleh dari hasil uji mikrobiologis pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya jumlah rata-rata bakteri *Coliform* untuk wilayah Surabaya selatan sebesar 1.101,17; Surabaya timur sebesar 760,38; Surabaya utara sebesar 750,67; Surabaya pusat sebesar 591,67 dan Surabaya barat sebesar 503,17. Setelah dianalisis statistik terbukti bahwa : tempat penjualan daging sapi tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) terhadap jumlah bakteri *Coliform* pada daging sapi. Ternyata jumlah

bakteri *Coliform* dalam daging sapi yang berasal dari pasar tradisional di wilayah Surabaya selatan lebih tinggi dibandingkan dengan wilayah lainnya. Hal ini disebabkan karena tempat penjualan daging sapi pada umumnya ditempat yang terbuka dan letaknya dipinggir jalan raya serta langsung berhubungan dengan udara bebas. Alasan ini sesuai dengan Anonimus (1982) bahwa salah satu mikroorganisme dapat ditularkan melalui media debu, air dan udara pada bahan makanan yaitu bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*. Menurut Buckle dkk. (1987) kondisi pasar yang masih sederhana, sanitasi lingkungan yang buruk serta tata laksana pemasaran yang tidak baik akan mendukung peningkatan kontaminasi dan berkembang biakan bakteri.

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi tingginya tingkat pencemaran bakteri pada daging sapi yang dijual di pasar tradisional adalah : zat-zat yang ada didalam daging sapi yaitu kadar air yang tinggi berkisar 68-75 persen, kaya akan nitrogen, mineral dan kelengkapan faktor-faktor untuk pertumbuhan. Kontaminasi pada permukaan daging sapi dapat terjadi sejak saat penyembelihan ternak hingga daging sapi dikonsumsi (Jawetz *et al.*, 1986 ; Soeparno, 1992). Selain itu tingkat kontaminasi pada daging sapi juga dipengaruhi oleh bakteri yang berasal dari lingkungan sewaktu hewan hidup, tempat penyembelihan (selama prosesing), alat penyembelihan dan tempat pemasaran (Frazier dan Westhoff, 1988). Lawrie (1995) menyatakan bahwa salah satu faktor yang paling penting untuk mengatur pertumbuhan bakteri adalah temperatur, semakin tinggi temperatur semakin besar tingkat pertumbuhan organisme pembusuk didalam

daging sapi yang dapat dikategorikan menjadi tiga yaitu : Psikrofiles dimana temperatur yang optimal antara -2°C dan 7°C , Mesofiles antara 10°C dan 40°C dan Thermofiles dari 43°C hingga 66°C . Inspeksi kesehatan Veteriner dan masyarakat harus hati-hati untuk menjamin daging terinfeksi bakteri pembusuk secara endogenous.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata jumlah bakteri *Coliform* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional $3,70 \times 10^3$. Jumlah bakteri *Coliform* masih di atas standar yang telah ditetapkan oleh Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan yaitu 10^2 pergram daging. Hal ini berarti bahwa daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Surabaya telah terkontaminasi oleh bakteri dari lingkungan disekitarnya. Disamping itu, besarnya jumlah bakteri *Coliform* disebabkan karena daging sapi sebelumnya telah terkontaminasi oleh bakteri pada waktu proses penyembelihan, sehingga bakteri *Coliform* tumbuh dan berkembang biak pada daging sapi. Menurut Tribowo (1989) bahan makanan ini dapat terkontaminasi oleh isi usus, peralatan pemotongan, air, lalat, udara dan debu sehingga dapat memperbesar jumlah bakteri.

Setelah dilakukan uji statistik membuktikan bahwa tempat penjualan daging sapi di pasar tradisional tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) terhadap jumlah bakteri *Escherichia coli*. Rata-rata kontaminasi bakteri *Escherichia coli* dari pasar tradisional sebesar 6,67. Dari angka ini menunjukkan bahwa daging sapi tersebut masih memenuhi syarat yang ditetapkan oleh

pemerintah mengenai batas maksimal jumlah bakteri *Escherichia coli* yang terdapat dalam bahan makanan yang layak untuk dikonsumsi yaitu 10 pergram daging. Faktor yang memungkinkan terkontaminasinya bakteri *Escherichia coli* adalah pemisahan antara karkas dengan jerohan, air yang digunakan untuk mencuci daging sapi, tempat untuk proses penyembelihan sapi potong dengan kandang untuk istirahat terlalu dekat. Pendapat tersebut sesuai dengan pernyataan Buckle (1987) bahwa jumlah dan jenis bakteri yang mencemari pada permukaan karkas ditentukan oleh pengelolaan sebelum penyembelihan dan tingkat pengendalian higienis yang dilaksanakan selama penanganan pada saat penyembelihan dan pembersihan karkas di Rumah Potong Hewan (RPH). Dengan adanya bakteri *Escherichia coli* dalam daging sapi dapat menimbulkan penurunan kualitas daging tersebut, disamping itu dapat pula menyebabkan gangguan bagi konsumen apabila cara memasaknya kurang sempurna. Gangguan tersebut berupa diare maupun gastroenteritis (Jay, 1978).

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi tingkat kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi segar yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya antara lain : (1) cara pengangkutan dan alat angkutan yang digunakan, (2) tempat penjualan daging sapi, (3) sarana air bersih dan (4) cara pengemasannya.

Cara pengangkutan yang digunakan umumnya menggunakan kendaraan umum dan daging sapi biasanya dimasukkan kedalam karung besar atau dibiarkan terbuka, sedangkan jerohan dimasukkan kedalam ember plastik. Dengan

penanganan cara ini menjadi kurang higienis sehingga terjadi kontaminasi yang tinggi oleh bakteri *Coliform*.

Pada umumnya tempat untuk berjualan dalam kondisi yang masih sangat sederhana, dimana bangunannya tidak permanen dan ditempat yang terbuka serta daging sapi yang dijual dengan cara digantung maka para pembeli dapat memegang langsung daging tersebut serta alat dapat menempel pada daging. Disamping itu tidak tersedianya sarana air bersih yang mencukupi maka akan mempengaruhi tingginya tingkat kontaminasi dari peralatan dan tangan si penjual daging sapi.

Cara pengemasan yang digunakan oleh penjual daging sapi tersebut bervariasi ada yang menggunakan daun sebagai pembungkus dan ada yang menggunakan dengan menggunakan kantong plastik. Cara pengemasan dengan menggunakan daun ini akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada daging sapi karena daun yang digunakan tidak steril dan lagi daun tersebut diletakkan dekat tempat pemotongan daging sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi lebih lanjut.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang tingkat pencemaran *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya maka dapat diambil kesimpulan dan saran sebagai berikut :

VI.1. Kesimpulan

1. Daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya terkontaminasi oleh bakteri *Coliform*.
2. Tidak terdapat perbedaan yang nyata pada masing-masing lokasi penjualan daging sapi terhadap jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*.

VI.2. Saran

1. Para penjual daging sapi agar memperhatikan higiene dan sanitasi lingkungannya.
2. Penanganan daging sapi hendaknya menggunakan tempat yang tertutup dan didinginkan dengan es agar bakteri tidak dapat berkembang biak.
3. Instansi terkait hendaknya memberikan penyuluhan kepada para pekerja di RPH (Rumah Pemotongan Hewan) agar meningkatkan higiene dan sanitasi dilingkungan sekitarnya.
4. Pendistribusian daging sapi harus diawasi oleh pihak yang terkait mengingat berkembang biakan bakteri sangat cepat.

RINGKASAN

SOEMARI tingkat pencemaran *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya di bawah bimbingan ibu Rr. Ratih Ratnasari, S.U., drh. selaku pembimbing pertama dan ibu Ajik Azmijah, S.U., drh. selaku pembimbing kedua.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui tingkat pencemaran bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Surabaya.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah daging sapi yang diperoleh dari pasar tradisional di wilayah Surabaya timur, Surabaya barat, Surabaya pusat, Surabaya utara dan Surabaya selatan. Masing-masing wilayah diambil sebanyak enam buah sampel. Jumlah keseluruhan sampel 30 buah.

Metode yang digunakan untuk penghitungan bakteri adalah MPN. Langkah pertama adalah dibuat sebanyak tiga buah seri pengenceran yaitu : 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . Masing-masing pengenceran tersebut dibiakkan pada media MCB sebanyak lima tabung. Jika hasilnya positif, lalu ditanam pada media EMBA.

Untuk menentukan jumlah bakteri *Coliform* di hitung berdasarkan pada tabung yang positif pada media MCB yaitu adanya gas didalam tabung Durham. Sedangkan untuk menentukan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* berdasarkan media EMB agar, pada setiap plate yang menunjukkan warna hijau metalik, kemudian diinterpretasikan dengan menggunakan tabel Mc. Crady's.

Data ini dianalisis dengan menggunakan RAK, dari hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* tidak terdapat perbedaan yang nyata ($p > 0,05$) pada masing-masing wilayah penjualan daging sapi di Wilayah Kotamadya Surabaya. Hal ini disebabkan karena cara penjualan daging sapi tidak memperhatikan higiene dan sanitasi disekitar pasar. Jumlah bakteri *Coliform* pada daging sapi melampaui batas maksimum yang telah ditentukan oleh Dirjen Pengawasan obat dan Makanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus, 1982. Manual Kesmavet Serial Daging (lanjutan) No: 23-I, Direktorat Kesehatan Hewan, Direktorat Jendral Peternakan, Departemen Pertanian, Jakarta.
- Anonimus, 1985. Persyaratan Sementara Cemarkan Mikroba dan Makanan, Dirjen Pengawasan Obat dan Makanan, Departemen Kesehatan, Jakarta.
- Anonimus, 1992. Pemotongan Hewan Potong dan Penanganan Daging serta hasil ikutannya, Surat Keputusan Menteri Pertanian No : 413/Kpts/TN.320/7/1992, Jakarta.
- Anonimus, 1994. Badan Perencanaan Pembangunan dan Pemerintah Daerah Kotamadya Daerah Tingkat II Surabaya. Surabaya.
- Bailey, W.R. and Scott, E.G. 1974. Diagnostic Microbiology, The C.V. Mostby Company, Saint Louis.
- Blakely, J. dan D.H. Bade, 1991. Ilmu Peternakan 4th edition, Penerjemah Bambang Sirigandono, Gajah Mada, University Press, Yogyakarta.
- Buckle, K.A.; Davey, G.R.; Eyles, M.J.; Fleet, G.H. and Murrell, W.G. 1979. Food Borne Microorganisms of Public Health Significance, 4th edition, School of Food Tehnology, University of New South Wales, Kennington, Australia.
- Buckle, K.A.; R.A. Edwards E.G.; M., Wotton dan G.H. Fleet, 1987. Ilmu Pangan, Edisi kedua, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Cordash, R.A., dan Insalata N.F., 1978. Incidence Patological Signification of *Escherichia coli* and Other Sanitary Indicator Organisms in Food and Water, Journal of Food Technology, Vol. II.
- Cowan, S.T., 1974. Manual for the Identification of Medical Bactery, Cambridge University Press.
- Cruickshank, R.; Duguid, J.P. and Marmion, B.P., 1975. Medical Microbiology, Twelf edition, Churchill Living Stone Edinburg, London.
- Dey, N. and Dey, T.K., 1982. Medical Bacteriology, 8th edition, Allied Agency, Calcutta.

- Fardiaz, S., 1993. Analisa Mikrobiologi Pangan, Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Fields, M.L., 1975. Fundamental of Food Microbiology, Avi Publishing Company Inc., West Port, Connecticut.
- Forrest, J.C.; E.D. Arble; M.D. Judges; R.A. Merkeland; H.B. Hendrick, 1975. Principle of Meat Science, W.H. Freemanen and Co. San Francisco, California.
- Frazier, W.C. and D.W. Westhoff, 1988. Food Microbiology, Tata Mc. Graw Publishing company Limited, New Delhi.
- Gaman, P.M. dan K.B. Sherrington, 1992. Ilmu Pangan, Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi dan Mikrobiologi, Gajah Mada university Press, Yogyakarta.
- Gracey, J.F., 1981. Thorthon's Meat Higiene, 7 edition, The English Language Book Society and Bailere Thindall, London.
- Hario, P.S., 1998. Analisis Kualitas Susu dan Daging, Fakultas Kedokteran Hewan, Kesehatan Masyarakat Veteriner, Surabaya.
- Jawetz, E.; J.L. Melnick dan Adelberg, 1980. Review of Medical Microbiology, 14 edition, Large Medical Publication Lost Angeles, California.
- Jawetz, E.; J.L. Melnick dan E.A. Adelberg, 1986. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology), 16 edition, editor G. Bonang, E.G.C., buku Kedokteran, Jakarta.
- Jay, M., 1978. Modern Food Microbiogy, Second edition, Published by Van Norstrang Company, New York.
- Jo Baron, E.; L.R. Peterson and S.M. Finegold, 1994. Diagnostic Microbiology, 9 edition, Mostby Year Book Co. Inc., Missouri.
- Kusniyo, 1988. *Escherichia coli*, *Enterobacter* dan *Klebsiella* Serta Deteksinya Dalam Bahan Pangan, Kursus singkat Mikrobiologi Pangan, PAV, Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Kusriningrum, R., 1989. Perancangan Percobaan, Rancangan Acak Kelompok, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya.
- Lawrie, R.A., 1985. Ilmu Daging, Edisi kelima, Alih Bahasa Parakkasi, A., Indonesia University Press, Jakarta.
- Libby, B.A., 1975. Meat Higiene, Fourt edition, Lea and Fabiger, Philadelphia.

- Merchant, I.A. and R.A. Parker, 1967. *Veterinary Bacteriology and Virology*, 7 edition, Iowa State Collage Press, Ames Iowa, USA.
- Oshashi, M., 1983. *Laboratory Assisted Surveilancein Primary healt Care*, South Asean Medical Information Centre, Tokyo.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan, 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*, Penerjemah Hadioetomo, T. Imas, S.S. Tjitrosoono dan S.L. Angka, universitas Indonesia, Jakarta.
- Ruyitno, 1993. *Pengantar Praktikum Bakteria, Petunjuk Pencemaran di suatu Perairan*, Pusat Pengembangan Oseanologi, LIPI, Jakarta.
- Soeparno, S. Keman, Setiyono, 1984. *Teknologi Produksi Ternak Daging*. Fakultas Peternakan Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Soeparno, 1992. *Ilmu dan Tehnologi Daging*, Fakultas Peternakan Universitas Gadjah Mada, University Press, Yogyakarta.
- Solitys, M.A., 1979. *Introduction of Veterinary Microbiology*, Universiti Pertanian Malaysia, Serdang, Selangor.
- Sosroamidjojo, M.S., 1980. *Ternak Potong dan Kerja*, C.V. Yasaguna, Jakarta.
- Suriawiria, U., 1996. *Mikrobiologi Air dan Dasar-dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis*, edisi kedua, Bandung.
- Tribowo, R., 1989. Keracunan makanan, *Harian Berita Yudha*, 11 april 1989, Halaman 5.

Lampiran 1.

Mac Conkey Broth

Komposisi :

Pepton	20,0 g
Laktosa	10,0 g
Bile salt	5,0 g
Sodium Chloride	5,0 g
Neutral red	0,075 g

Cara pembuatan :

Semua bahan diatas dicampur secara aseptis dan ditimbang sebanyak 40g kemudian dilarutkan dalam NaCl fisiologis sampai 1 lt, lalu panaskan sampai larut homogen. Isikan dalam tabung reaksi, masing-masing sebanyak 9 ml dan kedalam tabung reaksi tersebut di masukkan sebuah tabung Durham dengan posisi terbalik sambil di goyang-goyangkan sampai tabung Durham terisi penuh media. Setelah itu semua tabung reaksi ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil kemudian disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C dengan tekanan 15 atm selama 30 menit. Setelah diinkubasi, bila larutan MCB tetap jernih dan tidak mengalami perubahan warna maka media tersebut dianggap steril dan siap digunakan.

Lampiran 2. Eosine Methylene Blue Agar

Komposisi :

Pepton	10,0 g
Laktosa	10,0 g
Dipotassium hydrogen phosphat	2,0 g
Eosine	0,1 g
Methylene Blue	0,065 g
Agar	15,0 g
pH	6,8

Cara pembuatan :

Larutkan 37,8 g kedalam 1 lt aquadest, panaskan hingga media larut sempurna, sterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Dinginkan pada temperatur 60°C , kocok dahulu kemudian tuangkan pada cawan Petri steril sebanyak 20 ml dan biarkan dalam keadaan tertutup sampai membeku, lalu dibalik. Untuk uji sterilitas semua cawan Petri yang berisi media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, bila tidak ada pertumbuhan koloni dan perubahan warna media tersebut sudah dapat digunakan.

Lampiran 3.

Tryptone water

Komposisi perliter :

Tryptone 10,0 g

Sodium Chloride 5,0 g

Cara pembuatan :

Larutkan kedua bahan tersebut diatas dalam 1lt aquadest. Panaskan sampai media larut sempurna hingga pH menunjukkan 7,2. Isikan pada tabung yang volumenya sesuai dengan keperluan. Sterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

Reagen Kovach

Komposisi media ini terdiri dari Isoamil alkohol 75 ml dan para dimetil amino benzaldehyde 5 g yang dilarutkan dalam hidro chlorida pekat 25 ml.

Lampiran 4. Jumlah bakteri *Coliform* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional diwilayah Kotamadya Surabaya.

Perlakuan	Wilayah Surabaya					Total
	Timur	Barat	Pusat	Utara	Selatan	
1	348	177	542	920	1600	
2	426	1600	1600	1600	920	
3	920	542	348	426	542	
4	1600	348	278	426	345	
5	920	175	240	920	1600	
6	348	177	542	212	1600	
Jumlah	4562	3019	3550	4504	6607	22242
Rata-rata	760,33	503,17	591,67	750,67	750,67	3707,01

Lampiran 5. Hasil transformasi $^{10}\log(y)$ jumlah bakteri *Coliform* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya.

Perlakuan	Wilayah Surabaya					Total
	Timur	Barat	Pusat	Utara	Selatan	
1	2,54	2,25	2,73	2,96	3,20	
2	2,63	3,20	3,20	3,20	2,97	
3	2,96	2,73	2,54	2,63	2,73	
4	3,20	2,54	2,44	2,63	2,54	
5	2,96	2,24	2,38	2,96	3,20	
6	2,54	2,25	2,73	2,33	3,20	
Jumlah	16,83	15,21	16,02	16,71	17,84	82,61
Rata-rata	2,81	2,54	2,67	2,79	2,97	13,78

Lampiran 6. Analisis sidik ragam jumlah bakteri *Coliform*

$$FK = \frac{(82,61)^2}{5 \times 6}$$

$$= 227,48$$

$$JKT = (2,54)^2 + (2,63)^2 + \dots + (3,20)^2 - 227,48$$

$$= 3,08$$

$$JKK = \frac{(16,83)^2 + (15,21)^2 + \dots + (17,84)^2}{6} - 227,48$$

$$= 0,64$$

$$JKP = \frac{(13,68)^2 + (15,21)^2 + \dots + (13,05)^2}{5} - 227,48$$

$$= 0,56$$

$$JKS = 3,08 - 0,64 - 0,56$$

$$= 1,88$$

$$KTK = \frac{0,64}{5-1}$$

$$= 0,16$$

$$KTP = \frac{0,56}{6-1}$$

$$= 0,11$$

$$KTS = \frac{1,88}{(5-1)(6-1)}$$

$$= 0,09$$

$$F_{hit \text{ perl.}} = \frac{0,13}{0,09}$$

$$= 1,44$$

$$F_{hit \text{ klp.}} = \frac{0,16}{0,09}$$

$$= 1,78$$

SK	Db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Kelompok	4	0,64	0,16	1,78	2,87	4,43
Perlakuan	5	0,56	0,11	1,44	2,71	4,10
Sisa	20	1,88	0,09			
Total	29	3,08				

Kesimpulan : $F_{hit} < F_{tabel 0,05}$

Jumlah bakteri *Coliform* pada daging sapi menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata diantara lokasi penjualan daging sapi diwilayah Surabaya.

Lampiran 7. Jumlah bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya.

Perlakuan	Wilayah Surabaya					Total
	Timur	Barat	Pusat	Utara	Selatan	
1	0	0	7	0	0	
2	0	0	2	0	0	
3	7	0	0	0	0	
4	0	0	4	0	0	
5	4	0	4	0	4	
6	0	4	0	4	0	
Jumlah	11	4	17	4	4	40
Rata-rata	1,83	0,67	2,83	0,67	0,67	6,67

Lampiran 8. Hasil transformasi $^{10}\log(y+1)$ jumlah bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi yang dijual di beberapa pasar tradisional di wilayah Kotamadya Surabaya.

Perlakuan	Wilayah Surabaya					Total
	Timur	Barat	Pusat	Utara	Selatan	
1	0	0	0,90	0	0	
2	0	0	0,48	0	0	
3	0,90	0	0	0	0	
4	0	0	0,70	0	0	
5	0,70	0	0,70	0	0,70	
6	0	0,70	0	0,70	0	
Jumlah	1,60	0,70	1,38	0,70	0,70	5,08
Rata-rata	0,27	0,12	0,23	0,12	0,12	0,86

Lampiran 9. Analisis sidik ragam jumlah bakteri *Escherichia coli*

$$FK = \frac{(5,08)^2}{5 \times 6}$$

$$= 0,86$$

$$JKT = (0)^2 + (0)^2 + \dots + (0)^2 - 0,86$$

$$= 3,93$$

$$JKK = \frac{(1,60)^2 + (0,70)^2 + \dots + (0,70)^2}{6} - 0,86$$

$$= 0,13$$

$$JKP = \frac{(0,90)^2 + (0,48)^2 + \dots + (1,40)^2}{5} - 0,86$$

$$= 0,88$$

$$JKS = 3,93 - 0,13 - 0,88$$

$$= 2,92$$

$$KTK = \frac{0,13}{5-1}$$

$$= 0,03$$

$$KTP = \frac{0,88}{6-1}$$

$$= 0,18$$

$$KTS = \frac{2,92}{(5-1)(6-1)}$$

$$= 0,15$$

$$F_{hit \text{ perl.}} = \frac{0,18}{0,15}$$

$$= 1,20$$

$$F_{hit \text{ klp.}} = \frac{0,03}{0,15}$$

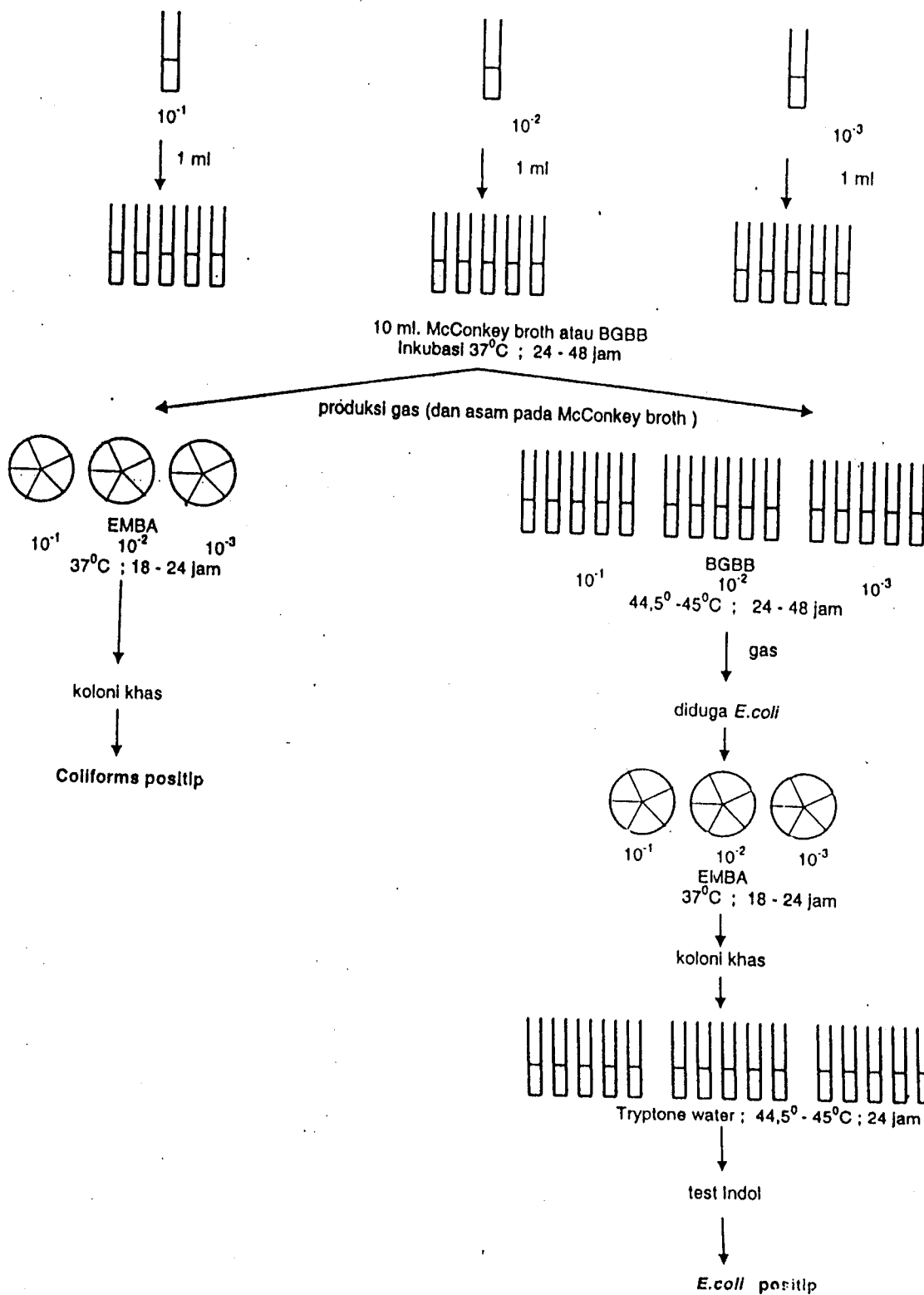
$$= 0,20$$

SK	Db	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel}	
					0,05	0,01
Kelompok	4	0,13	0,03	0,20	2,87	4,43
Perlakuan	5	0,88	0,18	1,20	2,71	4,10
Sisa	20	2,92	0,15			
Total	29	3,93				

Kesimpulan : $F_{hit} < F_{tabel \ 0,05}$

Jumlah bakteri *Escherichia coli* pada daging sapi menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata diantara lokasi penjualan daging sapi di wilayah Surabaya.

Metode Most Probable Number (Buckle, K.A., et al. 1979)



Tabel Mc. CRADY'S

Quantity of dilution and dilution of sampel added to each tube			MPN of bacteria per g of sampel	Quantity of dilution and dilution of sampel added to each tube			MPN of Bacteria per g of sampel
5 tubes of 1 ml of 1/10	5 tubes of 1 ml of 1/100	5 tubes of 1 ml of 1/1000		5 tubes of 1 ml of 1/10	5 tubes of 1 ml of 1/100	5 tubes of 1ml of 1/1000	
0	0	0	0	3	0	1	11
0	0	1	2	3	0	2	13
0	0	2	4	3	1	0	11
0	1	0	2	3	1	1	14
0	1	1	4	3	1	2	17
0	1	2	6	3	1	3	20
0	2	0	4	3	2	0	14
0	2	1	6	3	2	1	17
0	3	0	6	3	2	2	20
1	0	0	2	3	3	0	17
1	0	1	4	3	3	1	21
1	0	2	6	3	4	0	21
1	0	3	8	3	4	1	24
1	1	0	4	3	5	0	25
1	1	1	6	4	0	0	13
1	1	2	6	4	0	1	17
1	2	0	6	4	0	2	21
1	2	1	8	4	0	3	25
1	2	2	10	4	1	0	17
1	3	0	8	4	1	1	21
1	3	1	10	4	1	2	26
1	4	0	11	4	2	0	22
2	0	0	5	4	2	1	26
2	0	1	7	4	2	2	32
2	0	2	9	4	3	0	27
2	0	3	12	4	3	1	33
2	1	0	7	4	3	2	39
2	1	1	9	4	4	0	34
2	1	2	12	4	4	1	40
2	2	0	9	4	5	0	41
2	2	1	12	4	5	1	48
2	2	2	14	5	0	0	23
2	3	0	12	5	0	1	31
2	3	1	14	5	0	2	43
2	4	0	15	5	0	3	58
5	0	0	8	5	0	4	76
5	1	0	33	5	3	3	175
5	1	1	46	5	3	4	212
5	1	2	63	5	3	5	253
5	1	3	84	5	4	0	130
5	2	0	49	5	4	1	172
5	2	1	70	5	4	2	221
5	2	2	94	5	4	4	345
5	2	3	120	5	5	5	426
5	2	4	148	5	5	0	240
5	2	5	177	5	5	1	348
5	3	0	79	5	5	2	542
5	3	1	109	5	5	3	920
5	3	2	141	5	5	4	1600
				5	5	5	1600