

Uji Cemaran Mikroba Es Batu Pada Penjual Minuman di Lingkungan Pasar Kecamatan Jagakarsa, Jakarta Selatan

Tiara Cahya^{1*}, Mellova Amir¹, Rosario Trijuliamos Manalu¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sain dan Teknologi Nasional, Jl. Moch Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640, Indonesia.

*Email korepondensi: tiaracahya0509@gmail.com

ABSTRAK

Es batu merupakan produk pelengkap yang sering disajikan bersama minuman dingin dan mudah terkontaminasi oleh bakteri *Coliform*. Bakteri *Coliform* merupakan golongan bakteri yang banyak digunakan sebagai indikator kebersihan dalam pengolahan pangan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya cemaran mikroba pada es batu dalam parameter mikrobiologi menggunakan metode Angka Lempeng Total (ALT) dan *Most Probable Number* (MPN), dan yang diuji adalah total mikroba dan bakteri *Coliform*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari kedelapan sampel yang diuji dengan metode ALT dan MPN, semua sampel melebihi ambang batas yang ditetapkan BPOM nomor 16 tahun 2016, yaitu untuk angka lempeng total (ALT) 10^2 - 10^4 koloni/ml dan MPN < 1,8 – 10 MPN/100 ml.

Kata kunci: Angka Lempeng Total (ALT), *Coliform*, es batu, *Most Probable Number* (MPN)

Microbial Contamination Test of Ice Cubes in Beverages in The Jagakarsa Sub-District Market Area in South Jakarta

ABSTRACT

Ice cube is a complementary product that is often served with cold drinks and easily contaminated by *Coliform* bacteria. *Coliform* is a group of bacteria that is widely used as an indicator of cleanliness in food processing. This research was conducted to determine the microbial contamination of ice cubes in microbiological parameters using the Total Plate Count (TPC) and Most Probable Number (MPN) methods, and the total microbial and *Coliform* tested. The results of the eight samples tested by the TPC and MPN methods, all samples exceeded the threshold set by BPOM number 16 in 2016, namely for Total Plate Count (TPC) 10^2 - 10^4 colonies/ml and MPN < 1.8 - 10 MPN/100 ml.

Keywords: *Coliform*, ice cube, *Most Probable Number* (MPN), *Total Plate Count* (TPC)

PENDAHULUAN

Sehat dapat diartikan suatu keadaan yang sempurna baik secara fisik, mental, sosial serta bebas dari penyakit. Kesehatan menurut undang-undang nomor 36 tahun 2009, yaitu keadaan sehat baik secara fisik, mental, spiritual maupun sosial yang memungkinkan setiap orang untuk hidup produktif secara sosial dan ekonomis. Pangan adalah salah satu kebutuhan dasar yang sangat penting dalam kehidupan manusia, karena merupakan sumber energi dan gizi untuk melaksanakan aktivitas sehari-hari. Tanpa makanan, manusia tidak memiliki tenaga untuk bisa melaksanakan berbagai rutinitas setiap hari. Agar makanan berfungsi sebagaimana mestinya, kualitas makanan harus diperhatikan, mencakup ketersediaan zat-zat (gizi) yang dibutuhkan dan pencegahan terjadinya kontaminasi yang mengakibatkan gangguan kesehatan (Amaliyah, 2017).

Keamanan pangan menurut undang-undang nomor 18 tahun 2012 adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda-benda yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan bagi kesehatan manusia. Oleh karena itu, higiene dan sanitasi merupakan hal yang penting dalam menentukan kualitas Pangan. Pangan yang tidak aman dapat menyebabkan berbagai macam penyakit antara lain seperti diare, hepatitis, keracunan timbal, kolera, amebiasis, tifus, trachoma dan disentri.

Faktor-faktor yang menyebabkan pencemaran pada pangan yaitu, penanganan makanan dan minuman tidak dilakukan sesuai dengan syarat-syarat kebersihan, mulai dari bahan, peralatan, proses pengolahan, penyajian serta proses penyimpanan. Hal ini ditunjukkan oleh laporan tahunan BPOM tahun 2016 yang menyatakan bahwa higiene dan sanitasi masih menjadi masalah dalam produksi pangan. Dibuktikan dengan

temuan kandungan mikroba dalam sampel pangan, yaitu sebanyak 334 sampel mengandung kapang khamir, 334 sampel mengandung *Coliform*, 83 sampel mengandung *E.coli*, 25 sampel mengandung *Staphylococcus aureus* dan 11 sampel mengandung *Pseudomonas aeruginosa*. Rendahnya cakupan higiene dan sanitasi menjadi risiko terjadinya Kejadian Luar Biasa (KLB) diare. KLB diare sering terjadi dengan jumlah penderita dan kematian yang banyak yaitu 646 kasus (Kemenkes, 2014)

Kelompok mikroorganisme yang paling banyak ditemukan sebagai indikator kebersihan atau higiene, baik ditingkat pertanian ataupun ditingkat pengolahan pangan adalah dari famili Enterobacteriaceae. Enterobacteriaceae dapat mencemari makanan melalui tanah, debu, insekta, hewan pes, dan air. Salah satu contoh golongan Enterobacteriaceae adalah bakteri *Coliform*. Bakteri *Coliform* adalah bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi, kotoran dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan dan minuman (Suroño et al., 2018).

Berbagai jenis minuman mudah ditemukan di tempat-tempat yang menjual minuman dan makanan, restoran, warung pinggir jalan, pasar dan kantin (Rahmaniar & Habib, 2011). Minuman yang dijual rata-rata menggunakan es batu sebagai produk pelengkap yang sering disajikan bersama minuman untuk memberikan rasa segar (Sukawaty et al., 2016). Es batu dikenal masyarakat sebagai air yang dibekukan di dalam alat pendingin bersuhu 0°C. Air yang digunakan untuk membuat es batu harus higienis dan memenuhi standar sanitasi. Syarat mutu es batu untuk dinyatakan layak konsumsi atau tidak, diatur dalam Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3839-1995, kualitas es batu harus memenuhi persyaratan kualitas air minum sesuai Permenkes RI No. 492/ MENKES/PER/IV/2010 salah satunya parameter mikrobiologi yaitu tidak boleh mengandung bakteri *Coliform* melebihi ambang batas yang telah ditentukan, yaitu 0 koloni/100 ml (Permenkes, 2010). Berdasarkan peraturan BPOM RI Nomor 16 tahun 2016 yaitu angka lempeng total (ALT) 10^2 - 10^4 koloni/ml dan *Most Probable Number* (MPN) < 1,8 – 10 MPN/ 100 ml.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian mengenai uji cemaran mikroba es batu pada penjual minuman di lingkungan pasar Kecamatan Jagakarsa, Jakarta Selatan.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan-bahan yang digunakan adalah *Lactose Broth* (HIMEDIA), *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (MERCK), aquadest, NaCl 0,9 %, alkohol 70%, *Plate Count Agar* (OXOID), *Eosin Methylene Blue Agar* (OXOID), *Salmonella Shigella Agar* (SSA).

Pengambilan Sampel. Bahan uji yang digunakan adalah es batu dari penjual minuman di gerobak dan warung yang berbeda pada dua pasar tradisional, yaitu Pasar Lenteng Agung di wilayah Lenteng Agung dan Pasar Timbul di wilayah Muhammad Kahfi I, Cipedad, Jagakarsa, Jakarta Selatan.

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT). Es batu yang telah dicairkan diambil 1 ml secara aseptik, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang telah berisi 9 ml NaCl 0,9% dan dihomogenkan, larutan ini merupakan pengenceran 10^{-1} . Dibuat pengenceran 10^{-2} dengan dimasukkan 1 ml pengenceran 10^{-1} ke dalam tabung reaksi dan yang telah berisi 9 ml NaCl 0,9%. Selanjutnya dibuat pengenceran 10^{-3} dengan dimasukkan 1 ml dari pengenceran 10^{-2} ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml NaCl 0,9 %, pengerjaan dilakukan sampai pengenceran 10^{-5} . Media PCA yang telah memadat diinokulasikan suspensi sebanyak 0,1 ml dari setiap pengenceran dan dibuat duplo, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan koloni yang tumbuh pada setiap cawan petri dihitung (Mursalim, 2018).

Pengujian Most Probable Number (MPN) (Yusmaniar et al., 2017).

Uji Penduga. Sebanyak 3 buah tabung disiapkan yang masing-masing berisi *Lactose Broth Double Strength* (LBDS) 10 ml (1 s/d 3), disiapkan juga 6 tabung yang masing-masing berisi 5 ml *Lactose Broth Single Strength* (LBSS) (tabung 4 s/d 9). Sebanyak 10 ml sampel air diambil dan diinokulasikan ke dalam tabung 1 s/d 3. Tabung 4 s/d 6 diinokulasikan 1 ml sampel, di dalam tabung 7 s/d 9 d diinokulasikan 0,1 ml sampel. Tabung divorteks agar sampel air menyebar merata, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Setelah diinkubasi, diamati masing-masing tabung untuk melihat ada tidaknya gas dalam tabung Durham. Adanya gasmenunjukkan uji penduga positif.

Uji Penguat. Dari tiap-tiap tabung uji penduga positif dipindahkan satu ose ke dalam tabung yang berisi 10 ml *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLB), diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Setelah diinkubasi diamati masing-masing tabung untuk melihat ada tidaknya gas dalam tabung Durham. Pembacaan hasil dicocokkan dengan tabel MPN seri 3 tabung sesuai dengan tabung yang menunjukkan positif gas pada tabung Durham.

Uji Pelengkap. Dari hasil positif dari uji penguat, diambil satu ose dan digoreskan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Hasil positif *Escherichia coli* ditandai tumbuhnya koloni dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan.

Pengujian *Salmonella* sp. Es batu yang telah dicairkan diambil 1 ml secara aseptik, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang telah berisi 9 ml NaCl

0,9% dan di homogenkan, larutan ini merupakan pengenceran 10^{-1} . Pengenceran 10^{-2} dengan dimasukkan 1 ml pengenceran 10^{-1} ke dalam tabung reaksi dan yang telah berisi 9 ml NaCl 0,9%. Pengenceran 10^{-3} dengan dimasukkan 1 ml dari pengenceran 10^{-2} ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml NaCl 0,9%. Pengerjaan dilakukan sampai pengenceran 10^{-5} . Hasil dari tiap-tiap pengenceran dipipet sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi *Lactose Broth* lalu diinkubasi selama 24 jam. Sebanyak satu ose suspensi sampel lalu digoreskan di permukaan media *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Media yang telah digores diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Pertumbuhan bakteri *Salmonella sp.* ditunjukkan dengan ciri tidak berwarna (transparan) dengan inti hitam di tengah.

Pewarnaan Gram. Pertumbuhan koloni pada media diambil sebanyak satu ose dan disebar pada kaca objek, lalu ditetesi 1-2 tetes aquadest, dihomogenkan dan difiksasi dengan cara melewatkan kaca objek di atas api secara berulang-ulang hingga terlihat mengering. Olesan sampel kemudian ditetesi zat warna kristal violet dan didiamkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan aquades. Setelah itu, ditetesi larutan lugol 1-2 tetes selama 30 detik, dibilas dengan etanol 95% selama 15 detik, lalu dibilas dengan aquades. Selanjutnya ditetesi larutan safranin dan didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan aquades dan dikeringkan. Olesan preparat ditetesi minyak imersi, lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000 x (Yusmaniar et al., 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

Uji Angka Lempeng Total (ALT) merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk mengetahui jumlah mikroba pada suatu sampel. Uji ALT menggunakan media padat untuk memudahkan perhitungan koloni dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung. Interpretasi hasil berupa angka dalam koloni per ml atau koloni per gram. Pada pengujian ALT, sampel dilakukan pengenceran yang bertujuan untuk mengurangi jumlah populasi mikroorganisme, karena tanpa dilakukan pengenceran koloni yang tumbuh akan menumpuk sehingga akan menyulitkan dalam perhitungan jumlah koloni (Mansauda et al., 2014).

Media yang digunakan untuk pengujian ALT adalah media *Plate Count Agar* (PCA). PCA adalah media yang umumnya digunakan sebagai tempat menumbuhkan mikroba di permukaan sehingga membentuk koloni yang dapat dilihat, dihitung dan diisolasi. Masa inkubasi dilakukan selama 1 x 24 jam dengan membalik cawan petri yang berisi biakan. Hal ini dimaksudkan untuk menghindari jatuhnya butir air hasil pengembunan disebabkan suhu inkubator. Apabila sampai terdapat air yang jatuh maka akan merusak pembacaan angka lempeng total dari sampel yang diuji. Untuk perhitungan koloni dari masing - masing sampel hanya dihitung pengenceran dengan jumlah koloni

antara 25-250 (SNI, 2015). Pengujian dilakukan dua kali (duplo), sehingga hasil yang diperoleh harus diambil rata-ratanya terlebih dahulu dan kemudian dimasukkan ke dalam rumus dan dibandingkan dengan standar BPOM nomor 16 tahun 2016 kategori es batu. Hasil Pengujian ALT dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengujian angka lempeng total pada es batu

Sampel	Hasil (koloni/ml)	Standar BPOM (koloni/ml)	Keterangan
A1	$2,9 \times 10^4$	$10^2 - 10^4$	TMS
A2	$2,08 \times 10^5$	$10^2 - 10^4$	TMS
B1	$3,1 \times 10^4$	$10^2 - 10^4$	TMS
B2	$4,9 \times 10^4$	$10^2 - 10^4$	TMS
C1	$7,1 \times 10^4$	$10^2 - 10^4$	TMS
C2	$4,8 \times 10^5$	$10^2 - 10^4$	TMS
D1	$8,09 \times 10^4$	$10^2 - 10^4$	TMS
D2	$3,1 \times 10^4$	$10^2 - 10^4$	TMS

Keterangan :

TMS: tidak memenuhi syarat

A1: Pasar Lenteng Agung (Gerobak); A2: Pasar Lenteng Agung (Gerobak); B1: Pasar Lenteng Agung (Warung); B2: Pasar Lenteng Agung (Warung); C1: Pasar Timbul (Gerobak); C2: Pasar Timbul (Gerobak); D1: Pasar Timbul (Warung); D2: Pasar Timbul (Warung)

Hasil pada Tabel 1 menunjukkan bahwa semua sampel uji tidak memenuhi persyaratan BPOM RI nomor 16 tahun 2016, dengan cemaran tertinggi terdapat pada sampel A2 (pasar Lenteng Agung) yaitu $2,08 \times 10^5$ koloni/ml, dan sampel C2 (pasar Timbul) yaitu $4,8 \times 10^5$ koloni/ml. Dilihat dari posisi penjualan, sampel A2 (pasar Lenteng Agung) dan C2 (pasar Timbul) berada di luar pasar dengan posisi penjualan di pinggir jalan sehingga kemungkinan terjadinya cemaran yang berasal dari udara (debu), suhu dan juga lingkungan yang kurang bersih yaitu dekat dengan selokan dan juga sampah. Faktor lain yang menyebabkan adanya kontaminasi yaitu kurang memperhatikan unsur sanitasi dan higiene dalam pembuatan es batu mulai dari air yang digunakan, wadah penyimpanan, alat-alat dan kebersihan dari pekerja (Narwati et al., 2013).

Hasil Pengujian Most Probable Number (MPN) Coliform

Metode *Most Probable Number* (MPN) merupakan metode perhitungan sel, terutama untuk perhitungan bakteri *Coliform* berdasarkan jumlah perkiraan terdekat yaitu perhitungan dalam range tertentu dengan merujuk pada tabel MPN (Harti, 2015). Metode MPN digunakan secara luas di lingkungan sanitasi untuk menentukan jumlah koloni *Coliform* di dalam air, susu dan makanan lainnya. Metode MPN menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana prinsipnya adalah menghitung jumlah tabung positif yang ditandai dengan timbulnya kekeruhan dan gas di dalam tabung Durham. Metode MPN dilakukan dengan tiga tahap pengujian yaitu uji penduga, uji penguat, dan uji pelengkap (Yusmaniar et al., 2017).

Uji Penduga

Uji penduga merupakan uji awal untuk menduga ada atau tidaknya kehadiran bakteri *Coliform* pada sampel. media yang digunakan untuk mendeteksi kehadiran bakteri *Coliform* adalah media *Lactose Broth* (LB). Untuk uji penduga media yang digunakan adalah media *Lactose Broth Double Strength* (LBDS) dan

Lactose Broth Single Strength (LBSS). Fungsi pembuatan media LBDS adalah karena sampel yang digunakan banyak sehingga nutrisi yang diberikan harus banyak, sedangkan sampel yang sedikit menggunakan media LBSS. Hasil uji penduga dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Hasil uji penduga

Sampel	Tabung 10 ml			Tabung 1 ml			Tabung 0,1 ml			MPN/100 ml	Syarat BPOM MPN/100 ml	Keterangan
	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
A1	+	+	+	+	+	-	+	-	+	210		TMS
A2	+	+	+	+	+	-	-	+	-	150		TMS
B1	+	+	+	+	-	-	+	+	-	120		TMS
B2	+	+	+	-	-	+	+	-	+	120	< 1,8 – 10	TMS
C1	+	+	+	+	+	-	+	+	-	210		TMS
C2	+	+	+	+	-	+	+	+	-	210		TMS
D1	+	+	+	+	+	-	+	-	-	150		TMS
D2	+	+	+	-	-	+	+	-	+	120		TMS

Keterangan :

TMS = tidak memenuhi syarat; + = ada gelebuang gas; - = tidak ada gelembung gas

A1: Pasar Lenteng Agung (Gerobak); A2: Pasar Lenteng Agung (Gerobak); B1: Pasar Lenteng Agung (Warung); B2: Pasar Lenteng Agung (Warung); C1: Pasar Timbul (Gerobak); C2: Pasar Timbul (Gerobak); D1: Pasar Timbul (Warung); D2: Pasar Timbul (Warung)



Gambar 1. Hasil uji penduga positif sampel es batu, terbentuk gelembung gas pada media *Lactose Broth* (LB)

Hasil uji penduga menunjukkan bahwa semua sampel es batu yang diuji positif mengandung bakteri *Coliform* dengan jumlah bakteri melebihi ambang batas yang ditetapkan, yaitu < 1,8 – 10 MPN/100 ml. Sampel uji dengan cemaran tertinggi terdapat pada sampel A1,

C1 dan C2 dengan jumlah bakteri 210 MPN/100 ml. Hasil positif dari uji penduga akan dilanjutkan ke uji penguat, yang bertujuan untuk meyakinkan keberadaan bakteri *Coliform*.

Uji Penguat

Uji penguat dilakukan untuk meyakinkan keberadaan bakteri *Coliform*, karena pada uji penduga hasil yang positif tidak selalu disebabkan oleh adanya bakteri *Coliform*. Hasil uji positif dapat juga disebabkan oleh bakteri lain yang dapat fermentasi laktosa yang disertai dengan pembentukan gas. Dalam uji penguat digunakan media selektif yaitu media *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLB). Media ini mengandung garam empedu yang hanya menumbuhkan bakteri *Coliform* dan menghambat pertumbuhan bakteri selain *Coliform*. Hasil dari uji penguat dirujuk ke dalam tabel MPN seri tiga tabung untuk mengetahui jumlah sampel yang memenuhi syarat dan tidak memenuhi syarat. Hasil uji penguat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji penguat

Sampel	Tabung 10 ml			Tabung 1 ml			Tabung 0,1 ml			MPN/100 ml	Syarat BPOM MPN/100 ml	Keterangan
	1	2	3	1	2	3	1	2	3			
A1	+	+	+	-	+	-	+	-	+	120		TMS
A2	+	+	+	+	+	-	-	+	-	150		TMS
B1	+	+	+	+	-	-	+	+	-	120		TMS
B2	+	+	+	-	-	+	+	-	+	120	< 1,8 – 10	TMS
C1	+	+	+	+	-	+	-	+	-	150		TMS
C2	+	+	+	+	-	+	-	+	-	150		TMS
D1	+	+	+	+	+	-	+	-	-	150		TMS
D2	+	+	+	-	-	+	+	-	+	120		TMS

Keterangan :

TMS = tidak memenuhi syarat; + = ada gelebuang gas; - = tidak ada gelembung gas

A1: Pasar Lenteng Agung (Gerobak); A2: Pasar Lenteng Agung (Gerobak); B1: Pasar Lenteng Agung (Warung); B2: Pasar Lenteng Agung (Warung); C1: Pasar Timbul (Gerobak); C2: Pasar Timbul (Gerobak); D1: Pasar Timbul (Warung); D2: Pasar Timbul (Warung)

Delapan sampel yang dianalisis, semua sampel tidak memenuhi syarat karena melebihi ambang batas yang ditetapkan dengan cemaran tertinggi pada sampel A2, C1, C2 dan D1 dengan jumlah bakteri 150 MPN/100ml. Adanya bakteri *Coliform* di dalam es batu menunjukkan kemungkinan adanya bakteri yang bersifat enteropatogenik atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan.

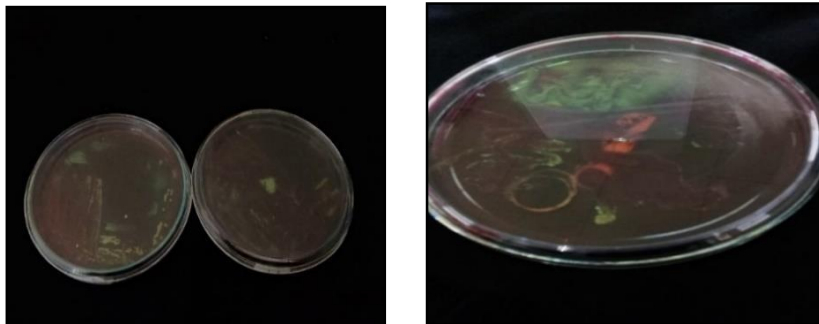


Gambar 2. Hasil uji penguat positif sampel es batu, terbentuk gelembung gas pada media *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLB)

Uji Pelengkap

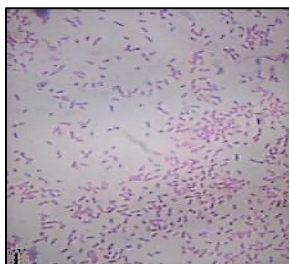
Sampel positif pada uji penguat diambil satu ose dan diinokulasikan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Media EMBA merupakan media yang bersifat selektif dalam menumbuhkan *Escherichia coli* karena dalam media ini mengandung eosin yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan hanya dapat menumbuhkan bakteri Gram negatif. Apabila dalam biakan terdapat *Escherichia coli*, maka asam yang dihasilkan dari fermentasi akan menghasilkan warna koloni yang spesifik untuk bakteri *Escherichia coli* yaitu koloni yang berwarna hijau dengan kilap logam (Mansauda et al., 2014).

Hasil yang diperoleh menunjukkan adanya pertumbuhan koloni mikroorganisme berwarna hijau dengan kilap logam (Gambar 3). Hal tersebut menunjukkan bahwa sampel positif tercemar *Escherichia coli*. Adanya bakteri *Escherichia coli* pada es batu menunjukkan buruknya kualitas es batu tersebut. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang menjadi salah satu indikator sanitasi dan juga bersifat patogen yang sering menyebabkan berbagai penyakit seperti diare.



Gambar 3. Hasil positif *Escherichia coli* pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA)

Koloni yang tumbuh pada media EMBA dilakukan uji pewarnaan Gram. Tujuan dari pewarnaan Gram untuk membedakan dua kelompok besar bakteri, yaitu Gram negatif dan Gram positif. Hasil pengamatan mikroskopik tampak bahwa bakteri berbentuk kokobasil (batang pendek) dan merupakan Gram negatif karena koloni berwarna merah (Gambar 4). Hal ini sesuai dengan literatur yang menyatakan bahwa bakteri *Escherichia coli* berbentuk batang pendek (kokobasil) dan merupakan Gram negatif (Mansauda et al., 2014).



Gambar 4. Hasil Pengamatan bakteri *Escherichia coli* pembesaran 1.000 x

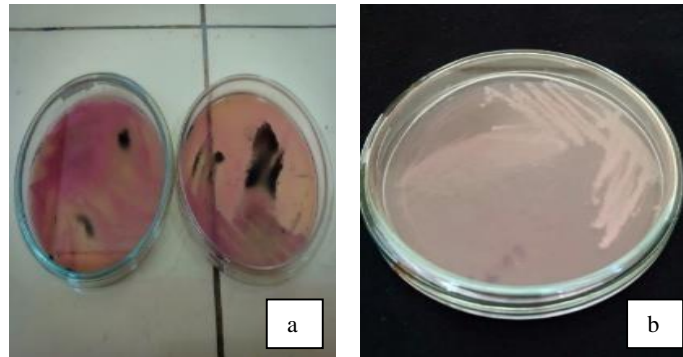
Dapat disimpulkan bahwa dari tiga pengujian (uji penduga, uji penguat, dan uji pelengkap) sampel yang diteliti tidak memenuhi standar BPOM nomor 16 tahun 2016 kategori es batu yaitu <math><1,8-10\text{ MPN}/100\text{ ml}</math> dan tidak memenuhi persyaratan kualitas air minum sesuai Permenkes RI No. 492/MENKES/PER/IV/2010 yaitu tidak boleh mengandung bakteri *Coliform* melebihi ambang batas yang telah ditentukan yaitu 0 koloni/100 ml.

Pada penelitian sebelumnya mengenai kehadiran bakteri *Coliform* dalam es batu pada tiga rumah makan siap saji di Bandung didapat hasil dari 3 sampel es batu yang diuji 2 sampel positif mengandung bakteri *Coliform* (Michael et al., 2010). Penelitian lainnya mengenai analisis kualitas es batu berdasarkan kandungan *Coliform* di kantin UIN Raden Intan Lampung didapatkan hasil dari 20 sampel es batu yang diuji hanya 1 sampel yang memenuhi syarat dan layak dikonsumsi (Kamelia et al., 2018).

Uji Keberadaan Bakteri *Salmonella* sp

Bakteri *Salmonella* sp. diketahui merupakan penyebab utama penyakit yang penyebarannya melalui medium makanan atau dikenal dengan istilah *foodborne diseases*. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella* dikenal dengan istilah salmonellosis, yaitu gastroenteritis dan demam tifoid. Penyakit ini ditandai dengan berbagai gejala antara lain diare, demam, kram perut, sakit kepala, muntah-muntah dan merasa mual

yang berkepanjangan (Amaliyah, 2017). Untuk uji *Salmonella*, media yang digunakan adalah *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Media SSA adalah media selektif untuk mengisolasi bakteri *Salmonella* dan *Shigella*. *Salmonella* akan tumbuh membentuk koloni transparan dengan bagian tengah berwarna hitam dan *Shigella* akan tumbuh membentuk koloni transparan (Gambar 5 & Tabel 5).



Gambar 5. Uji *Salmonella* pada media *Salmonella Shigella Agar* (SSA). (a) hasil pertumbuhan positif *Salmonella*, (b) tidak ada pertumbuhan *Salmonella*

Tabel 5. Data hasil uji keberadaan bakteri *Salmonella* sp. pada es batu

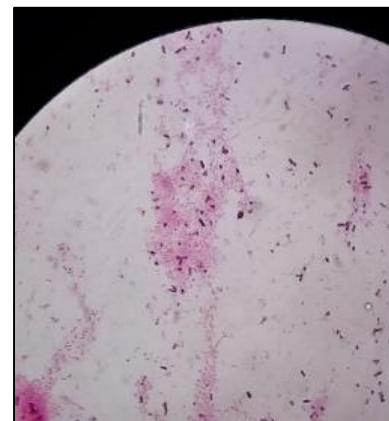
Sampel	Pengenceran			
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
A1	-	-	-	-
A2	-	-	-	-
B1	-	-	-	-
B2	-	-	-	-
C1	-	-	-	-
C2	+	+	-	-
D1	-	-	-	-
D2	-	-	-	-

Keterangan :

- + : positif *Salmonella* sp.
- : negatif *Salmonella* sp.

Hasil dari delapan sampel yang diuji, satu sampel positif adanya pertumbuhan *Salmonella* sp., yaitu sampel C2 (pasar Timbul) yang ditandai dengan ciri koloni tidak berwarna dan ada bintik hitam dibagian tengah. Hasil ini menunjukkan sampel C2 tidak memenuhi syarat BPOM nomor 16 tahun 2016, yaitu es batu tidak boleh mengandung *Salmonella* (negatif/25 ml).

Biakan positif pada media SSA selanjutnya dilakukan pewarnaan Gram untuk mengetahui bentuk bakteri serta untuk membedakan bakteri Gram positif atau Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram dan dilihat secara mikroskopik menunjukkan warna koloni bakteri Gram negatif, yaitu berwarna merah dengan bentuk basil (batang) (Gambar 6).



Gambar 6. Hasil pewarnaan Gram bakteri *Salmonella* sp. pembesaran 1000 x

KESIMPULAN

Delapan sampel es batu yang diuji, semua tidak memenuhi persyaratan Peraturan Kepala BPOM RI nomor 16 tahun 2016 tentang kriteria mikrobiologi olahan pangan kategori es batu.

DAFTAR PUSTAKA

Amaliyah, N. (2017). *Penyehat Makanan Dan Minuman*. Yogyakarta: Deepublish.
 Badan Pengawasan Obat Dan Makanan. (2016). *Keputusan kepala BPOM RI tentang Kriteria Mikrobiologi Dalam Pangan Olahan*. Jakarta: BPOM.

- Kamelia, M., Anggoro, B.S., & Sa'adah, P. (2018). Analisis Kualitas Es Batu Berdasarkan Kandungan *Coliform* di Kantin UIN Raden Intan Lampung. *Biosfer*, 9(1), 61-71.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2014). *Profil Kesehatan Indonesia 2014*. Jakarta. Hal 143
- Mansauda, K.L.R., Fatimawali, & Kojong, N. (2014). Analisis Cemarannya Bakteri *Coliform* Pada Saus Tomat Jajanan Bakso Tusuk Beredar Di Manado. *Pharmacon*, 3(2), 37-44.
- Mursalim. (2018). Pemeriksaan Angka Lempeng Total Bakteri Pada Minuman Sari Kedelai Yang diperjualbelikan di Kecamatan Manggala Kota Makasar. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 1(1), 56-61.
- Narwati, Y.T., Rika, I. Putra, D.A., & Wiraputranto, M.C. (2013). Uji Mikrobiologis Es Batu Konsumsi Di Kantin Sekitar Lingkungan Fakultas Kedokteran Unika Atma Jaya. *Damianus Journal Of Medicine*, 12(1), 8-15.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2010). *Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 492/ MENKES/ PER/VI/2010 Tentang Persyaratan Kualitas Air Minum*. Jakarta: Menteri Kesehatan Republik Indonesia.
- Presiden Republik Indonesia. (2009). *Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 36 Tahun 2009 Tentang Kesehatan*. Jakarta
- Presiden Republik Indonesia. (2012). *Undang-Undang Republik Indonesia Nomor 18 Tahun 2012 Tentang Pangan*. Jakarta
- Rahmaniar, S.A. & Habib, I. (2011). Perbandingan Kualitas Es Batu Di Warung Makan Dengan Restoran di DIY dengan Indikator Jumlah Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* Terlarut. *Mutiara Medika*, 11(3), 150-158.
- Standar Nasional Indonesia. (2015). SNI 2332.3:2015 Tentang Penentuan Angka Lempeng Total (ALT) Pada Produk Perikanan
- Sukawaty, Y., Kamil, M., & Kusumawati, E. (2016). Uji Cemarannya Bakteri *Coliform* Pada Minuman Air Tebu. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(2), 248-253.
- Surono, I.S., Sudiby, A. & Waspodo, P. (2018). *Pengantar Keamanan Pangan Untuk Industri Pangan*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish (Grup Penerbitan CV Budi Utama). Hal 59-61
- Yusmaniar, Wardiyah & Nida, K. (2017). *Mikrobiologi Dan Parasitologi*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan. Hal 24,61