

ANALISIS CEMARAN BAKTERI *Coliform* DAN IDENTIFIKASI *Escherichia coli* PADA ES BATU BALOK DI KOTA KARAWANG

Himyatul Hidayah*, Iin Lidia Putama Mursal, Hawa Ayu Susaningsih, Surya Amal

Fakultas Farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang, Jawa Barat, Indonesia.

*Penulis Korespondensi: himyatul.hidayah@ubpkarawang.ac.id

ABSTRAK

Es batu merupakan salah satu produk pangan yang sudah dikenal oleh masyarakat luas dan telah dianggap aman untuk dikonsumsi. Tujuan dilakukan penelitian ini yaitu untuk melihat cemaran bakteri *Coliform* dan adanya *Escherichia coli* pada es batu balok. Metode pengujian yang digunakan yaitu antara lain : uji *Coliform* dan Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian menunjukkan 2 dari 6 sampel positif mengandung bakteri *coliform* dan bakteri *Escherichia coli* dengan nilai MPN di atas batas aman. Kesimpulan penelitian ini adalah es batu balok yang digunakan oleh para pedagang di sekitaran kota Karawang memiliki kualitas mikrobiologis yang tidak layak untuk dikonsumsi oleh masyarakat dan tidak memenuhi persyaratan mutu mikrobiologis Standar Nasional Indonesia 01-3839-1996 tentang es batu yaitu Total Bakteri *Coliform* melebihi 0/100 mL.

Kata Kunci: Es batu balok, *Coliform*, *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Ice cubes are one of the food products that are well known by the public and are considered safe for consumption. The Aim of this research is to see the contamination of *Coliform* bacteria and the presence of *Escherichia coli* in ice cubes. Test methods used include: *Coliform* test and identification of *Escherichia coli* bacteria. The results showed that 2 of the 6 positive samples contained *Coliform* bacteria and *Escherichia coli* bacteria with MPN values above the safe limit. The conclusion of this study is that the ice cubes used by the perpetrators around the city of Karawang have microbiological quality that is not suitable for consumption by the public and does not comply with the microbiological quality requirements of the Indonesian National Standard 01-3839-1996 regarding ice cubes, namely the Total *Coliform* Bacteria exceeds 0/100mL.

Keywords: Ice cubes, *Coliform*, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Es batu merupakan salah satu produk pangan yang sudah dikenal oleh masyarakat luas dan telah dianggap aman untuk dikonsumsi. Menurut Sukawaty pada tahun 2016, es batu merupakan salah satu produk pangan yang terbuat dari air yang melalui proses pembekuan. Biasanya dalam pemakaian es batu ini dicampurkan pada minuman sebagai bahan pelengkap sehingga minuman tersebut terasa segar (Yullia Sukawaty, *et al.*, 2016). Bakteri *Coliform* yang terkandung di dalam es batu dapat menjadi sumber pembawa penyakit, terutama penyakit enterik sehingga es batu tersebut tidak layak untuk dikonsumsi (Hadi *et al.*, 2014).

Indikator pencemaran mikroba air minum adalah total *Coliform* dan *Escherichia coli*. Total *Coliform* adalah suatu kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi kotoran. Total *Coliform* yang berada di dalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik dan atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan. Air olahan DAM harus bebas dari kandungan total *Coliform* dan *E. coli*. Bakteri *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*,

Serratia dan *Proteus* termasuk ke dalam golongan *Enterobacteriaceae* yang sering mengontaminasi air dan dapat penyebab infeksi saluran cerna (Hadi *et al.*, 2014).

Hadi *et al* melakukan penelitian pada tahun 2014 di Kota Padang menunjukkan adanya cemaran bakteri *Coliform* pada 8 dari 9 sampel es batu rumah tangga yang dijual di pasaran. Indeks *Most Probable Number* (MPN) yang dimiliki oleh es batu tersebut sekitar 9 sampai > 979/100 mL. Bakteri *Coliform* yang terkandung di dalam es batu dapat menjadi sumber pembawa penyakit, terutama penyakit enterik sehingga es batu tersebut tidak layak untuk dikonsumsi (Hadi *et al.*, 2014).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : Aluminium foil (Best Fresh), Cawan petri (Pyrex), bunsen blup, hot plate (Heidolph), jarum ose (Rofa), kaca objek (Microscope Slide), mikroskop (Smic), Laminar Air Flow (LAF), Inkubator (Mammert), timbangan analitik (Vortex), rak tabung reaksi, tabung reaksi (Pyrex), autoklaf (ALP), pipet

(Pyrex), micropipet (Dragon Lab), pipet volume (Pyrex).

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : es batu balok dari sekitaran kota Karawang, Jawa Barat, media *Nutrient Agar* (NA), media *Lactose Broth*, medium MRVP, media agar *Eosin Methylene Blue*, medium *Sulfide Indole Motility*, media agar *Simmons Citrate Agar*, Kristal Violet, lugol, alkohol 70%, minyak imersi, aquadest, aquabidest, spirtus, NaCl fisiologis, reagen kovac's, safranin, *methyl red*, iodine, barritt's A atau alfa naflo 5%, dan KOH 40%.

Cara Kerja

Pengambilan Sampel

Es batu balok yang digunakan sebagai sampel diambil sebanyak 6 sampel yang berasal dari tempat distributor es balok dan dari pedagang minuman kaki lima di sekitar pasar tradisional kota Karawang dan blangko yang digunakan adalah aquadest steril yang berfungsi sebagai pembanding. Sampel es batu balok yang telah didapatkan, kemudian disimpan di dalam plastik klip steril dan disimpan pada suhu 25-30°C. Sampel yang akan

diuji di laboratorium tidak lebih dari 24 jam.

Pembuatan Media Pertumbuhan

***Nutrient Agar* (NA) Miring**

Media *Nutrient Agar* (NA) ditimbang sebanyak 1,69 gram lalu dilarutkan dalam 60 mL aquadest kemudian diaduk hingga homogen sambil dipanaskan dengan menggunakan *hot plate*. *Nutrient Agar* kemudian diambil sebanyak ± 5 mL dan dimasukkan pada tabung reaksi. Medium disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian setelah disterilisasi media dimiringkan 45° dan dipadatkan (Rafika dan Pratiwi, 2014).

***Lactose Broth* (LB)**

Menimbang *Lactose Broth* sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam 60 mL aquadest kemudian diaduk hingga homogen sambil dipanaskan dengan menggunakan *hot plate*. Kemudian mengambil 10 mL media lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sebelumnya telah berisi tabung durham, kemudian disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Rafika dan Pratiwi, 2014).

Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

Menimbang *Esosin Methylene Blue Agar* (EMBA) sebanyak 1,090 gram kemudian dilarutkan dengan menggunakan aquadest sebanyak 1 liter lalu diaduk hingga homogen sambil dipanaskan dengan menggunakan *hot plate*. Medium yang telah dipanaskan kemudian disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Andrian *et al.*, 2014).

Sulfide Indole Motility (SIM)

Menimbang *Sulfide Indole Motility* sebanyak 1,087 gram, dan dilarutkan dengan menggunakan aquadest sebanyak 30 mL lalu diaduk hingga homogen sambil dipanaskan dengan menggunakan *hot plate*. Kemudian mengambil ± 15 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Medium disterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Ismail dan Fariedah, 2014).

Methyl Red-Voges Proskauer (MRVP)

Menimbang MRVP sebanyak 0,52 gram lalu dilarutkan dengan 30 mL aquadest kemudian diaduk hingga homogen dan dipanaskan dengan menggunakan *hot plate*. Medium diambil sebanyak ± 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

Medium kemudian disterilisasikan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Sari dan Apridamayanti, 2014).

Simmons Citrate-Agar

Mengambil Media *Simmons Citrate Agar* untuk ditimbang sebanyak 0,70 gram kemudian dilarutkan dengan aquadest sebanyak 1 liter kemudian diaduk hingga homogen lalu dipanaskan dengan *hot plate*. Kemudian mengambil ± 7 mL medium *simmons citrate* agar dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian medium disterilisasikan sama seperti media agar sebelumnya. Setelah disterilisasikan tabung reaksi berisi medium kemudian dimiringkan 45° dan dipadatkan (Irianto, 2006).

Uji Coliform

Uji Penduga (Confirmative Test)

Uji penduga (*Presumptive Test*) dengan menggunakan 9 tabung reaksi (dengan menggunakan seri 3-3-3). Masing-masing tabung reaksi berisikan media *lactose broth* sebanyak 10 mL dan dilengkapi dengan tabung durham dalam keadaan posisi yang terbalik. Sampel es batu balok yang sebelumnya telah dicairkan kemudian diambil sebanyak 10 mL, 1 mL, 0,1 mL. 3 seri

pertama diisikan sampel es batu sebanyak 10 mL dengan bantuan pipet volum, 3 seri tabung reaksi kedua diisikan sebanyak 1 mL sampel es batu balok, dan 3 seri tabung ketiga diisikan sampel es batu sebanyak 0,1 mL dengan menggunakan mikropipet. Pengisian sampel dilakukan secara aseptis. Semua tabung reaksi yang sudah berisikan sampel kemudian diinkubasi pada inkubator pada suhu 37°C dan diamati hasilnya. Hasil positif jika terbentuk gas berupa rongga kosong pada tabung durham (Bambang *et al.*, 2014; Hadi *et al.*, 2014)

Uji Penguat (*Confirmative Test*)

Tabung yang menunjukkan hasil positif pada uji penduga sebelumnya kemudian dilanjutkan dengan uji penguat. Mengambil 1-2 ose kemudian digoreskan pada cawan yang berisi medium EMBA dan diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C dan ditunggu 1×24 jam. Bakteri yang diduga *E. coli* memiliki koloni yang berwarna hijau metalik (Widyanti *et al.*, 2004).

Uji Pelengkap (*Completed Test*)

Tabung yang pada uji penguat menghasilkan hasil positif kemudian diambil sebanyak 1 ose dan diinkubasi

dalam *Lactose Broth* dengan jarum inokulasi secara aseptik dan diinkubasi dengan menggunakan inkubator pada suhu 37°C selama 1 × 24 jam. Jika terbentuk gelembung pada tabung durham maka hasilnya positif dan untuk membedakan bakteri golongan *Coli* dari bakteri golongan *Coli* Fekal dengan cara menginkubasi medium NA dengan posisi dimiringkan pada suhu 37°C (untuk golongan *Coli*) dan diinkubasi pada suhu 42°C (untuk golongan *Coli* Fekal) dan hasil bakteri yang tumbuh di *Nutrient Agar* dilakukan uji pewarnaan (Widyanti *et al.*, 2004).

Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Pewarnaan Gram

Bakteri yang sebelumnya sudah diinokulasi pada media *Nutrient Agar* (NA) miring dan sudah diinkubasi selama 1×24 jam pada suhu 36-37°C, kemudian diambil ± 1 ose lalu diletakan pada gelas objek. Gelas objek difiksasi dengan cara dilewatkan apusan di atas api bunsen. Apusan ditetesi dengan larutan kristal violet lalu didiamkan selama 1 menit kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Apusan ditetesi dengan beberapa tetes larutan iodine, dibiarkan selama 1 menit setelah itu dicuci

kembali dengan menggunakan air mengalir dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Apusan ditetesi dengan alkohol lalu didiamkan selama 30 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan dengan cara dianginkan. Kemudian apusan diberi beberapa tetes safranin lalu didiamkan selama 30 detik dan dicuci dengan menggunakan air yang mengalir setelah itu dikeringkan dengan cara dianginkan dan diamati dibawah mikroskop (Sari dan Apridamayanti, 2014).

Uji IMViC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, Simmons Citrate)

Uji Indol

Bakteri uji yang sebelumnya sudah ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan posisi miring diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan kedalam media *Sulfide Indole Motility* (SIM) dengan kontrol satu tabung yang tidak diinokulasikan bakteri. Kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, lalu menambahkan 5 tetes reagen *kovac's* ke dalam masing-masing tabung dan didiamkan selama 10 menit. Jika terbentuk lapisan berwarna merah pada permukaan biakan menandakan reaksi

indol positif (Sari dan Apridamayanti, 2014).

Uji Methyl Red

Bakteri uji yang telah ditumbuhkan pada *Nutrien Agar* (NA) dengan posisi miring diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media MR-VP dengan blangko satu tabung berisi media MR-VP yang tidak diinokulasikan bakteri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Menambahkan 3 tetes pereaksi *methyl red*. Hasil uji positif ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi merah, dapat diartikan bahwa telah terbentuk asam (Sari dan Apridamayanti, 2014).

Uji Voges Proskauer

Bakteri uji yang telah ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan posisi miring, kemudian diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media MR-VP yang tidak diinokulasikan bakteri. Kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dengan ditambahkan alfa naftol 5% sebanyak 0,6 mL dan KOH 40% sebanyak 0,2 mL kemudian didiamkan. Hasil uji positif ditandai

dengan terbentuknya cincin warna merah muda (SNI, 1992).

Uji *Simmons Citrate*

Mengambil bakteri uji yang telah ditumbuhkan sebelumnya pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan posisi miring sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media *Simmons Citrate* dengan blangko satu tabung berisi media *Simmons Citrate* yang tidak diinokulasikan bakteri, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna pada medium biakan menjadi biru (Hadioetomo, 1993; Sudarsono, 2008).

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Mengambil bakteri uji yang sebelumnya sudah ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* (NA) dengan posisi miring sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media TSIA dengan cara menusuk tegak lurus pada bagian *butt* (tusuk) dan cara zig zag pada bagian *slant* (miring) dengan menggunakan blangko satu tabung yang berisikan media TSIA yang tidak

diinokulasikan oleh bakteri. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diamati perubahan yang terjadi pada warna medium. Apabila pada bagian *slant* berubah warna menjadi merah dan *butt* menjadi warna kuning maka bakteri mampu memfermentasi glukosa, sedangkan apabila pada bagian *slant* dan *butt* tidak berubah warna menjadi kuning maka bakteri mampu memfermentasi sukrosa dan laktosa (Yusuf, 2009).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Penduga

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai *Most Probable Number* (MPN) dari sampel es batu balok mengandung bakteri *coliform* dan bakteri *Escherichia coli*. Tabel 1 menunjukkan hasil uji penduga dari sampel D dan E yang berasal dari pedagang es memiliki total bakteri *Coliform* terendah yaitu <100 mL, sedangkan sampel B yang berasal dari distributor es batu balok memiliki total bakteri *Coliform* tertinggi yaitu >100 mL, hal tersebut menandakan bahwa sampel B es batu balok tidak layak untuk dikonsumsi oleh masyarakat luas.

Tabel 1. Nilai *Most Probable Number* (MPN) sampel es batu balok

Kode Sampel	Jumlah <i>coliform</i>	SNI 01-3839-1995
A	>100 mL	0/100 mL
B	>100 mL	0/100 mL
C	0/100 mL	0/100 mL
D	<100 mL	0/100 mL
E	<100 mL	0/100 mL
F	0/100 mL	0/100 mL

Keterangan: A= Sampel Pabrik Es Batu Blok Kopel; B= Sampel Distributor Es Batu Balok Adiarsa; D= Sampel Pabrik Es Batu Balok Adiarsa; E= Sampel Es Batu Balok pedagang minuman; C&F= Blangko aquadest.

Dari hasil positif yang ditunjukkan pada tabel di atas kemudian tahap selanjutnya yaitu dihitung dengan menggunakan perhitungan MPN (*Most Probable Number*), sebagai berikut :

$$\text{MPN/g} = \frac{(\sum g_j)}{(\sum t_{jm} \times \sum (t_j - m_j))^{1/2}}$$

$$\text{MPN/g} = \frac{6}{(0,99 \times 0,003) \frac{1}{2}}$$

$$\text{MPN/g} = \frac{6}{0,054}$$

$$\text{MPN/g} = 111 \text{ g}$$

Berdasarkan hasil perhitungan dapat dikatakan bahwa sampel yang memiliki indeks MPN /100 mL tinggi yang melebihi batas normal yang tercantum pada SNI 01-3839-1995 tentang es batu sebesar 0/100 mL yaitu pada sampel A dan B dan pada sampel C dan F memiliki indeks yang rendah dikarenakan sampel tersebut dijadikan blangko yang digunakan sebagai

pembanding berupa larutan aquadest. Hasil uji penduga menunjukkan 4 sampel es batu dengan kode sampel A, B, D, E tidak layak untuk dikonsumsi karena melewati batas maksimum cemaran bakteri *Coliform* pada es batu. Sampel es batu yang tidak layak untuk dikonsumsi perlu diwaspadai dalam penggunaannya, hal tersebut dikarenakan untuk menghindari efek yang merugikan bagi masyarakat yang mengkonsumsinya

Uji Penguat

Pada uji penduga yang menunjukkan hasil positif kemudian dilakukan pengujian selanjutnya yaitu uji penguat. Sampel yang telah dinyatakan positif pada media uji penduga kemudian sampel tersebut ditumbuhkan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dengan cara zigzag. Sampel yang menunjukkan hasil positif mengandung bakteri *E. coli*

ditandai dengan adanya koloni yang tumbuh pada media, koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji penguat

Kode Sampel	Karakteristik koloni <i>E. coli</i> pada EMB Agar	Hasil	Kemenkes RI No.97/MENKES/SK/VII/2002
A	Koloni berwarna hijau metalik	+	-
B	Koloni berwarna hijau metalik	+	-



Gambar 1. Hasil uji penguat

Hasil uji penguat yang ditunjukkan pada tabel 2 dan gambar 1 bahwa koloni berwarna hijau metalik yang menandakan bahwa pada es batu balok mengandung bakteri *E. coli*, berdasarkan Kemenkes RI No. 907/MENKES/SK/VII/2002 tentang syarat dan pengawasan kualitas air minum berdasarkan persyaratan mikrobiologis terhadap bakteri *E. coli* adalah 0/100 mL. Hal tersebut menunjukkan bahwa es batu balok yang

diujikan tidak layak untuk dikonsumsi dan hal ini dapat menyebabkan patogen bagi masyarakat yang mengkonsumsinya.

Uji Pelengkap

Sampel yang menunjukkan hasil positif pada uji penguat kemudian diinokulasikan pada media *Lactose Broth* untuk membuktikan bahwa bakteri yang tumbuh pada uji penguat merupakan bakteri *Coliform* dan *E. coli*.

Tabel 3. Hasil uji pelengkap

Kode Sampel	Suhu	Hasil	SNI 01-3839-1995
A	37°C	+	-
B	37°C	+	-



Gambar 2. Hasil uji pelengkap pada suhu 37°C.

Hasil uji pelengkap yang ditunjukkan pada tabel 3 menunjukkan bahwa sampel positif bakteri coliform dan bakteri *E. coli*. Sampel yang diuji menunjukkan positif bakteri golongan coli sehingga, sampel es batu yang digunakan positif tercemar bakteri *coli*. Es batu yang telah tercemar bakteri *coli* dapat dikatakan bahwa air yang digunakan sebagai bahan pembuatan utama es batu balok tidak higienis dan tidak memenuhi syarat air minum yang diperbolehkan.

Uji IMViC

Hasil uji IMViC menunjukkan bahwa sampel es batu balok positif mengandung bakteri *E. coli* yang terlihat dari hasil uji indol positif ditandai dengan lapisan merah terbentuk

pada media pada saat ditetaskan larutan Kovac's. Hasil uji *methyl red* menunjukkan bahwa media berubah menjadi warna merah ketika ditetaskan reagen *methyl red* hal tersebut menunjukkan bahwa sampel positif mengandung bakteri *E. coli*. Pengujian *Voges Proskauer* ini dilakukan dengan menambahkan larutan alfa-naftol dan kalium hidroksida pada media *Voges Proskauer* yang telah diinokulasikan bakteri. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa sampel positif mengandung bakteri *E. coli*. Uji *Simmons Citrate* pada 2 sampel es batu balok yang dipilih menunjukkan hasil positif atau terjadi perubahan warna media menjadi berwarna biru.

Tabel 4. Hasil IMViC

Kode Sample	Uji Indol	Uji MR	Uji VP	Uji Simmons Citrate	Hasil
A	+	+	+	+	Positif <i>E. coli</i>
B	+	+	+	+	Positif <i>E. coli</i>
C	-	-	-	-	Positif <i>E. coli</i> (blangko)
D	-	-	-	-	Positif <i>E. coli</i> (blangko)

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Hasil uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) menunjukkan bahwa sampel es batu yang positif mengandung bakteri *E. coli* ditandai dengan perubahan pada media agar menjadi kuning pada *slant* dan *deep* dengan menghasilkan gas, sehingga media terlihat seperti terbelah atau pecah dan tidak menghasilkan.

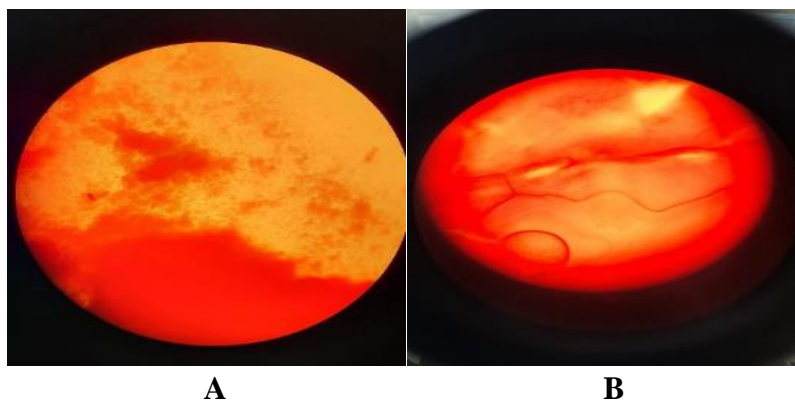
Tabel 5. Hasil uji TSIA

Kode Sampel	Hasil Uji	Keterangan
A	+	<i>E. coli</i>
B	+	<i>E. coli</i>
C	-	Negatif <i>E. coli</i> (blangko)
F	-	Negatif <i>E. coli</i> (blangko)

Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan gram pada 2 sampel es batu balok yang diuji

menghasilkan bakteri yang berbentuk basil pendek dan berwarna merah muda yang dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram bakteri *E. coli* sampel A dan B dengan kontrol pembesaran 40 x.

Pewarnaan Gram membutuhkan empat reagen, yaitu kristal violet, iodine, safranin, dan alkohol. Kristal violet memiliki fungsi yaitu mewarnai semua sel menjadi berwarna ungu, lalu menambahkan iodine untuk meningkatkan afinitas sel terhadap zat warna dengan membentuk kompleks dengan pewarna pertama. Alkohol digunakan sebagai pelarut lipid yang ada pada sel dinding bakteri sehingga hal tersebut akan membuat dinding sel bakteri gram positif akan tetap bertahan. Safranin termasuk ke dalam pewarna akhir yang akan memberi warna pada bakteri gram negatif sehingga akan menjadi warna merah muda (Soenarto, 2009). Hasil pewarnaan gram pada sampel es batu balok sesuai dengan literatur yang digunakan yaitu menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* termasuk ke dalam jenis gram negatif dan berbentuk batang.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa cemaran *Coliform* pada sampel es batu balok memiliki konsentrasi melebihi batas maksimum yang telah ditetapkan oleh Standar Nasional Indonesia 01-3839-1996. Sampel D dan E merupakan cemaran terendah yaitu <100mL dan cemaran tertinggi didapatkan dari

sampel A dan B yaitu >100mL. Pemeriksaan bakteri anggota genus *Escherichia coli* dilakukan dengan menginokulasikan sampel pada media selektif yaitu *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Media ini merupakan media selektif untuk menumbuhkan bakteri anggota genus *E. coli*. Media EMBA mengandung laktosa, jika dalam biakan terdapat bakteri *E. coli* maka asam yang dihasilkan dari fermentasi laktosa akan menghasilkan warna koloni yang spesifik untuk bakteri *E. coli* yaitu koloni yang berwarna hijau dengan kilapan logam. Hasil uji menunjukkan bahwa koloni berwarna hijau metalik yang berarti bakteri tersebut merupakan anggota *E. coli* (Gambar 1).

Cemaran bakteri *Coliform* dan *E. coli* yang tertinggi yaitu dari sampel A dan B, hal tersebut dapat terjadi karena baik pada saat proses pembuatan es batu balok atau dalam penanganan tidak higienis, sehingga menimbulkan cemaran bakteri. Sesuai dengan hasil observasi menunjukkan bahwa pada sampel A dan B penanganan dilakukan di ruang terbuka dan menggunakan air sungai yang merupakan sumber pencemaran bakteri seperti dipinggir jalan atau parit. Menurut Hadi *et al*

(2014), dalam pembuatan es batu air yang digunakan harus higienis dan telah memenuhi standar sanitasi, hingga saat ini, belum terdapat peraturan pemberian izin atau rekomendasi mengenai kelayakan usaha es batu yang baku ditinjau dari segi higienis dan sanitasi, dikarenakan usaha es batu masih termasuk ke dalam usaha skala kecil dan termasuk ke dalam usaha rumah tangga, sehingga higienis dan sanitasinya masih diragukan. Pernyataan ini didukung oleh Vollaard *et al* (2004) bahwa dengan mengkonsumsi minuman yang menggunakan campuran es batu sebagai bahan pelengkap dapat menjadi sumber pembawa penyakit, terutama penyakit enterik.

Cemaran bakteri *coliform* ditemukan pada sampel D dan E yaitu memiliki cemaran yang <100mL, hal tersebut dapat terjadi dikarenakan sampel pada saat sebelum digunakan disimpan di wadah yang tertutup dari polusi udara. Menurut Jay *et al* (2000), Es batu memiliki suhu yang rendah, sehingga diduga mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme, di mana semua reaksi metabolisme mikroorganisme yang telah dikatalis oleh enzim tertentu sangat dipengaruhi

oleh temperatur. Berdasarkan hasil observasi ke lapangan didapat bahwa pada pedagang minuman menggunakan peralatan yang dibersihkan terlebih dahulu sebelum digunakan untuk mengambil es batu balok.

Hasil uji IMViC (*Indol Metil Voges-Proskauer Citrate*) menunjukkan bahwa 2 dari 4 positif mengandung bakteri *E. coli* dan terbentuknya lapisan berwarna merah pada media ketika diteteskan reagen *Kovac's* (Tabel 4). Uji indol dilakukan untuk melihat kemampuan organisme yang mendegradasi asam amino triptofan dan menghasilkan indol (Hemraj, 2013) dan isolate yang tidak diisolasi tidak memiliki kemampuan tersebut sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri yang tumbuh buat bakteri yang berasal dari anggota spesies *E. coli* namun masih termasuk anggota genus *Escherichia*. Hasil uji *Methyl red* menunjukkan bahwa media berubah menjadi berwarna merah ketika diteteskan reagen *Methyl red* yang menandakan bahwa hasil uji positif mengandung bakteri *E. coli*. Uji *Methyl red* dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam dengan konsentrasi tinggi sebagai hasil akhirnya dan hasil asam yang terbentuk

berubah menjadi merah dengan ditamapkannya reagen *Methyl red*.

Hasil uji *Voges Proskauer* menunjukkan hasil positif atau terjadi perubahan pada media menjadi berwarna merah. Uji VP yang merupakan pengujian untuk mendeteksi asetoin dalam kultur bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan penambahan alpha-naftol pada media VP yang sebelumnya telah diinokulasikan bakteri. Hasil pewarnaan gram pada kedua sampel es batu balok yang diuji menunjukkan bahwa bakteri memiliki bentuk basil pendek dan berwarna merah muda (Gambar 3). Bakteri yang terkandung di dalam es batu balok merupakan bakteri yang berasal dari anggota genus *E. coli* yang memiliki sifat gram negatif dan berbentuk batang. Sampel uji terkontaminasi oleh bakteri anggota genus *E. coli* dapat disebabkan oleh faktor lingkungan khususnya air. Air merupakan media bakteri *Coliform* dan *E. coli* untuk bertahan hidup (Alkandahri *et al.*, 2020. Munculnya kedua bakteri tersebut pada sampel es batu balok dapat disebabkan oleh proses memasak air yang kurang matang sehingga dapat menyebabkan bakteri tersebut tetap hidup di dalam sampel es batu balok.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan dan sesuai dengan perhitungan *Most Probable Number* (MPN) dapat disimpulkan bahwa es batu balok yang digunakan oleh para pedagang di sekitaran kota Karawang memiliki kualitas mikrobiologis yang tidak layak untuk dikonsumsi oleh masyarakat, karena dapat menyebabkan penyakit enterik dan tidak sesuai dengan persyaratan mutu mikrobiologis Standar Nasional Indonesia 01-3839-1996 tentang es batu yaitu Total Bakteri *Coliform* melebihi 0/100mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Alkandahri, M.Y., Kusumawati, A.H., and Fikayuniar, L. Antibacterial Activity of Zingiber officinale Rhizome. *International Journal of Psychosocial Rehabilitation*. 2020, 24(7): 3702-3706.
- Bambang, AG., Fatimawali, dan Kojong, NS. 2014. Analisis Cemaran Bakteri *Coliform* dan Identifikasi *Escherichia coli* Pada Air Isi Ulang Dari Depot di Kota Manado. *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT*. 2014, 3(3): 325-334.
- Hadi, B., Bahar, E., dan Semiarti, R. 2014. Uji Bakteriologis Es Batu Rumah Tangga yang Digunakan Penjual Minuman di Pasar Lubuk Buaya Kota Padang. *Jurnal*

- Kesehatan Andalas*. 2014, 3(2): 119-122.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. 2002. Keputusan menteri kesehatan RI Nomor 907/Menkes/SK/VII/2002 tentang Syarat-Syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum.
- Depkes RI. 2010. Keputusan menteri kesehatan RI 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum.
- Departemen Kesehatan RI. 2010. Keputusan Menteri Kesehatan RI 492/Menkes/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum.
- ITS. 2012. *Escherichia coli*. United States: Integrated Taxonomic Information System.
- James, JH. 2015. *Manual of Clinical Microbiology* 11th Edition. Washington, DC: ASM PRESS, pp 685-699.
- Jawetz, E., Melnick, JL., Adelberg, EA., Brooks, GF., Butel, JS., and Ornston, LN. 1995. *Mikrobiologi Kedokteran*. University of California, San Francisco.
- Jay, JM, Loessner, MJ., and Golden, DA. 2005. *Modern Food Microbiology*. USA: Springer Science.
- Johnson, JR. 2002. *Evolution of Pathogenic Escherichia coli*. USA: Elsevier Science 55-77.
- Mahon, CR., Donald, LC., and George, M. 2015. *Diagnostic Microbiology* 5th Edition, Missouri: Saunders Elsevier, pp 421-451.
- Michael,. Onggowidjaja, P., dan Rusumana, D. Bakteri *Coliform* Dalam Es Batu Pada Tiga Rumah Makan Ayam Goreng Siap Saji Di Bandung. *JKM*, 2010, 9(2):124-128.
- Mirja, MN. Hygiene Sanitasi dan Jumlah *Coliform* Air Minum. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 2014, 9(2): 167-173.
- Mishra, SK., and Agrawal, D. 2012. *A Concise Manual of Pathogenic Microbiology*. John Wiley & Sons, Inc. pp 71-75.
- Nafees, A. 2014. *Sherris Medical Microbiology 6th Edition*, Unites States: McGraw Hill Education, pp.579-598.
- Rahayu, WP., Siti, NS., dan Komalasari, ES. 2021. *Escherichia coli: Patogenitas, Analisis, dan Kajian Risiko*. PT Penerbit IPB Press.
- Sukawaty, Y., Kamil, M., dan Kusumawati, E. Uji Cemar Bakteri *Coliform* Pada Minuman Air Tebu. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 2016, 2(2): 248-253.
- Vollard, AM., Soegianto, A., Henri, AGH., Asten, V., Suwandhi, W., and Leo GV. Risk Factors for Typhoid and Paratyphoid Fever in Jakarta, Indonesia. *The Journal of American Medical Association*. 2014, 291(21): 43-60.