

KUALITAS MIKROBIOLOGIS ES BATU BALOK BERDASARKAN CEMARAN BAKTERI *Coliform* DAN *Salmonella* sp DI WILAYAH KARANGPAWITAN, KARAWANG

Putri Agustina*, Kamelia Risna, Eko Sri Wahyuningsih, Neni Sri Gunarti, Lia Fikayuniar

Universitas Buana Perjuangan Karawang, Karawang, Indonesia

*Penulis Korespondensi: putri.agustina@ubpkarawang.ac.id

Abstrak

Es batu merupakan salah satu bahan tambahan pada minuman yang umumnya aman untuk dikonsumsi tanpa harus melihat jenis dan kualitasnya. Penggunaan air sebagai sumber pembuatan es batu akan mempengaruhi kualitas es batu baik secara fisik maupun secara mikrobiologis. Suhu yang dingin pada es batu hanya melemahkan bakteri pada es batu saja. Sampel es batu dalam penelitian ini diambil dari wilayah Karangpawitan yang terbagi dalam tiga wilayah yaitu Kepuh, Pondok Bogor dan Nagasari. Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk melihat kualitas mikrobiologis es batu balok berdasarkan cemaran bakteri *coliform* dan *Salmonella*. Metode penelitian ini termasuk penelitian kuantitatif dengan pendekatan deskriptif laboratorik, menggunakan uji *Most Probable Number* (MPN) untuk *coliform* dan media *Salmonella* Shigella Agar (SSA) serta pewarnaan gram untuk *Salmonella*. Hasil pada lokasi Pondok Bogor dan Kepuh sampel es batu balok positif mengandung bakteri *coliform*. Lokasi Nagasari untuk jenis es batu balok positif bakteri *coliform* dan negatif *Salmonella*. Kesimpulan penelitian ini yaitu pada jenis es batu balok yang berada di wilayah karangpawitan memiliki cemaran bakteri cukup tinggi. Nilai MPN pada sampel yang positif menunjukkan tidak termasuk syarat mutu berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010 yaitu $>0/100$ mL.

Kata kunci : *Coliform*, Kualitas Es Batu, *Salmonella* sp

Abstract

The cold temperature of ice cubes leads people to assume that ice cubes are safe for consumption without having to consider their type and quality. In reality, the cold temperature only weakens the bacteria in the ice cubes. Ice cube samples in this study were taken from the Karangpawitan area, because this area is one of the areas with many ice cube distributors, is busy, and is one of the culinary destinations for Karawang residents. The purpose of this study was to determine the quality of block ice cubes based on contamination by *Coliform* and *Salmonella*. This research method includes qualitative research with an experimental approach, using the MPN test for *Coliform* and SSA media and gram staining for *Salmonella*. Results from the Pondok Bogor and Kepuh locations showed positive block ice cube samples for *Coliform* bacteria. The Nagasari location for block ice cubes and plastic packaging tested positive for *Coliform* bacteria and negative for *Salmonella*. The conclusion of this study is that the block ice cubes in the Karangpawitan area have quite high bacterial contamination. Positive results indicate that they do not meet the quality requirements based on Permenkes No. 492/Menkes/Per/IV/2010, which is $>0/100$ mL.

Keywords: *Coliform*, Ice Quality, *Salmonella* sp

PENDAHULUAN

Air yang digunakan untuk membuat es batu harus memiliki kualitas yang sama dengan air minum (Siti & Roka, 2021). Suhu dingin pada es batu dianggap memiliki kemampuan untuk mematikan mikroorganisme. Oleh karena itu, menimbulkan asumsi bahwa es batu dianggap aman untuk dikonsumsi. Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan es batu terkontaminasi bakteri, seperti penggunaan air untuk es batu tanpa ada proses pemasakan, alat yang digunakan produksi tidak steril, dan kondisi kebersihan pada saat penjualan. Salah satu kelompok mikroorganisme yang dapat digunakan sebagai indikator yang baik untuk memeriksa kebersihan adalah famili Enterobacteriaceae (Zahra *et al.*, 2019).

Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3839-1995, es batu harus memenuhi standar kualitas air minum sebagaimana diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 492/MENKES/PER/IV/2010. Salah satu persyaratan mikrobiologis yaitu es batu tidak boleh mengandung bakteri *Coliform* dengan jumlah melebihi batas yang ditetapkan, yaitu 0 koloni per 100 mL. Sedangkan pada bakteri *Salmonella sp* dalam makanan dan minuman menurut keputusan Direktorat Jenderal POM Nomor 03726/5K/V11/89 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam makanan, menyatakan bahwa makanan (baik bahan baku maupun produk olahan) tidak diperbolehkan mengandung *Salmonella sp* (Cahya *et al.*, 2019).

Kontaminasi bakteri *Coliform* pada es batu menunjukkan kualitas yang buruk. Kehadiran bakteri ini mengindikasikan rendahnya tingkat sanitasi es batu, yang juga dapat menjadi tanda adanya bakteri patogen enterik. Salah satu bakteri

patogen enterik yang dapat mengkontaminasi es batu adalah *Salmonella sp* (Azhari & Febriansyah Sengaji, 2023). *Salmonella sp* adalah salah satu bakteri Enteropatogenik yang menjadi penyebab gastroenteritis. Bakteri ini dapat masuk ke tubuh manusia melalui mulut bersama makanan atau minuman yang terkontaminasi. Penularannya dapat terjadi melalui kontak tangan, lalat, atau serangga lainnya. *Salmonella sp* mampu bertahan hidup dalam kondisi beku dan kering, serta dapat menyebar melalui makanan dan air minum (Dwitami & Wijayanti, 2024).

Pada studi sebelumnya telah dilakukan pengujian mikrobiologi terhadap jenis es batu balok yang dijual oleh pedagang di sekitar Kota Karawang. Hasilnya menunjukkan bahwa seluruh sampel yang diuji terdeteksi mengandung bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* (Hidayah *et al.*, 2022). Pada saat ini jenis es batu kristal lebih dominan digunakan para pedagang untuk penambahan pada minumannya. Tapi tidak menutup kemungkinan jenis es batu tersebut tercemar oleh bakteri. Misalnya pada hasil penelitian Azhari *et al.*, (2022) yaitu, dilakukan pengujian terhadap cemaran bakteri *Coliform*, identifikasi bakteri *E. coli*, dan *Salmonella* pada sampel es batu rumahan, es batu kristal, dan es batu balok yang diambil dari Gang Lebar, Wonocolo, Surabaya. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel es batu balok positif mengandung bakteri *E. coli*, *Salmonella sp*, dan *Coliform*. Sampel es batu kemasan plastik terdeteksi positif mengandung bakteri *Coliform*. Sementara itu, pada sampel es batu kristal, tidak semua terdeteksi positif mengandung bakteri *Coliform* dan *E. coli*.

Salah satu tempat di Karawang yang cukup banyak distributor es batunya yaitu wilayah

Karangpawitan. Wilayah ini juga dikenal sebagai kawasan yang ramai dengan pedagang, terutama di sekitar lapangannya, sehingga sering dianggap sebagai destinasi kuliner yang menarik minat masyarakat Karawang. Banyak distributor es batu yang mensuplai es batu kepada para pedagang di lapangan Karangpawitan, di area sekolah dan bahkan diluar wilayah Karangpawitan. Distributor es batu di Karangpawitan menyediakan berbagai jenis es batu, seperti es batu balok, kemasan plastik, dan kristal. Para pedagang membeli es batu tersebut untuk digunakan sebagai campuran minuman. Namun, kualitas es batu yang dijual oleh distributor tersebut belum diketahui terjamin baik atau tidak. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis perbedaan kualitas jenis es batu yang dijual oleh distributor es batu di wilayah Karangpawitan dengan menggunakan parameter fisik, yaitu warna, bau, dan rasa, serta uji mikrobiologi dengan metode *Most Probable Number* (MPN) untuk identifikasi bakteri *Coliform*, dan uji dengan media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) serta pewarnaan gram untuk mendeteksi bakteri *Salmonella*

METODE PENELITIAN

Jenis dan Desain Penelitian

Jenis penelitian yang diambil merupakan desain deskriptif laboratik dengan hasil kuantitatif.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Buana Perjuangan Karawang dalam waktu 3 bulan.

Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan sampel es batu di wilayah Karawang dengan sampel uji yang dipilih Adalah jenis es batu balok di Wilayah Karangpawitan yang terbagi dalam tiga Lokasi yaitu Kepuh, Pondok Bogor dan Nagasari, Kabupaten Karawang, Jawa Barat.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Cawan petri (Pyrex), bunsen, blue tip, hot plate (Heidolph), jarum ose (Rofa), kaca objek (Slide Microscope), mikroskop (Smic), Laminar Air Flow (LAF) (Biobase), inkubator (Memmert), timbangan analitik (vortex), autoklaf (ALP), vortex, pipet tetes, micropipet (Dragon Lab), tabung durham, rak tabung reaksi

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Es batu balok yang diambil pada distributor es batu di sekitar wilayah Karangpawitan, Karawang, Jawa Barat, media *Lactose Broth* (LB), media agar Eosin Methylene Blue Agar (EMBA), media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), NaCl 0,9 %, aquades, kristal violet, lugol, safranin, etanol 95%, dan minyak imersi.

Prosedur Kerja

Pengambilan Sampel

Sampel es batu diambil dari tiga titik lokasi yang berada di wilayah Karangpawitan, Karawang Barat, Karawang, Jawa Barat, yaitu di wilayah Pondok Bogor, Kepuh dan Nagasari. Setiap titik lokasi diambil sampel jenis es batu balok. Total sampel jenis es batu yang digunakan yaitu sebanyak 3 sampel yang diperoleh dari distributor es batu di

ketiga titik lokasi tersebut. Untuk pembanding yang akan digunakan yaitu aquadest. Sampel jenis es batu yang telah dikumpulkan disimpan pada suhu dingin ($\pm 4^{\circ}\text{C}$).

UJI BAKTERI COLIFORM

Uji Penduga (*Presumptive test*)

Uji penduga dilakukan dengan menggunakan 9 tabung reaksi (menggunakan seri 3-3-3). Pada masing-masing tabung reaksi berisikan media *Lactose Broth* sebanyak 10 mL. Pada tabung reaksi itu juga telah dilengkapi dengan adanya tabung durham yang diposisikan terbalik. Setelah sampel es batu dicairkan, kemudian diambil sebanyak 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL. Pada 3 seri pertama menggunakan pipet volum untuk mengisikan sampel es batu sebanyak 10 mL, pada 3 seri tabung kedua diisikan sebanyak 1 ml sampel es batu, dan 3 seri tabung ketiga menggunakan mikropipet untuk mengisikan sampel es batu sebanyak 0,1 mL. Sampel diisi secara aseptis. Selanjutnya, setiap tabung reaksi yang telah diisi dengan sampel diinkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam dan kemudian diamati hasilnya. Hasil positif jika terdapat gas berbentuk rongga di tabung durham (Hidayah *et al.*, 2022). Hasil dinyatakan dalam MPN/100ml.

Uji Penegas (*Confirmative Test*)

Uji penegas dilakukan jika menunjukkan hasil positif pada uji penduga sebelumnya. Diambil sebanyak 1-2 ose, kemudian dimasukkan ke dalam cawan berisi medium EMBA. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 1 x 24 jam. Bakteri yang diduga *E. coli* memiliki koloni hijau metalik (Hidayah *et al.*, 2022).

Uji Pelengkap (*Completed Test*)

Tabung yang menghasilkan hasil positif dari uji penegas, kemudian dilanjutkan pada uji selanjutnya yaitu uji pelengkap. Diambil sebanyak 1 ose pada hasil yang positif dari uji penegas, kemudian dimasukkan ke dalam media *Lactose Broth* dengan jarum inokulasi secara aseptik. Kemudian, diinkubasi pada suhu 37°C selama 1×24 jam, dan jika terbentuk gelembung pada tabung durham, maka hasilnya positif (Hidayah *et al.*, 2022).

IDENTIFIKASI BAKTERI *SALMONELLA SP*

Pengujian *Salmonella sp* dengan Media *Salmonella Shigella Agar (SSA)*

Diambil 1 mL es batu cair secara aseptik, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi 9 mL NaCl 0,9 % aduk hingga homogen. Larutan tersebut merupakan pengenceran 10^{-1} . Pada pengenceran 10^{-2} , dimasukkan 1 mL pengenceran 10-1 kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl 0,9 %. Pengenceran 10^{-3} dimasukkan 1 mL pengenceran dari 10^{-2} yang telah berisi 9 mL NaCl 0,9%. Hasil dari tiap pengenceran dipipet sebanyak 1 mL, lalu dimasukkan ke dalam tabung *Lactose Broth* dan diinkubasi selama 24 jam. Satu ose suspensi sampel digoreskan pada media yang mengandung *Salmonella Shigella Agar (SSA)*. Diinkubasi selama 24-48 jam di suhu 37°C , pertumbuhan bakteri *Salmonella* ditunjukkan oleh karakteristik tidak berwarna (transparan) dengan inti hitam di bagian tengahnya (Cahya *et al.*, 2019).

Pewarnaan Gram

Diambil sebanyak 1 ose pertumbuhan koloni pada media SSA, dan disebarluaskan pada kaca objek. Kemudian, ditetesi 1-2 tetes aquadest, lalu dihomogenkan, dan difiksasi dengan melewatkannya

kaca objek di atas api berulang kali hingga terlihat kaca objek mengering. Pada olesan sampel kemudian ditetesi larutan zat kristal violet dan diamkan selama 1 menit, setelah didiamkan kaca objek dibilas dengan aquadest. Kemudian di tetesi larutan lugol dengan 1-2 tetes selama 30 detik, dibilas dengan etanol 95% selama 15 detik, dan dibilas juga dengan aquades. Kemudian, ditetesi larutan safranin dan didiamkan selama 1 menit, dibilas dengan aquades dan setelah itu dikeringkan. Setelah itu, olesan preparat ditetesi dengan minyak imersi dan selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000 x (Cahya *et al.*, 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel es batu diambil dari tiga titik lokasi yang berada di wilayah Karangpawitan, Karawang Barat, Karawang, Jawa Barat, yaitu di wilayah Pondok Bogor, Kepuh, dan Nagasari. Setiap titik lokasi diambil sampel jenis es batu balok dengan total sampel jenis es batu yang digunakan yaitu sebanyak 3 sampel yang diperoleh dari distributor es batu di ketiga titik lokasi tersebut. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Maret 2025.

Analisis Bakteri *Coliform* Metode *Most Probable Number* (MPN)

Ada tiga tahapan uji untuk analisis kandungan bakteri *coliform* dalam sampel menggunakan metode MPN, yaitu Uji Penduga, Uji Pelengkap dan Uji Penegas. Hasil dari masing-masing uji adalah sebagai berikut :

Uji Penduga (*Presumptive Test*)

Pada uji penduga media yang digunakan adalah media cair yaitu *Lactose Broth* (LB). Hasil sampel yang positif ditandai dengan adanya gelembung di dalam tabung durham, terjadinya

kekeruhan, dan terjadinya perubahan warna pada media. Hasil yang diperoleh dari uji penduga pada 3 sampel dan 1 blanko (aquadest) menunjukkan hasil yang beragam.

Berikut di bawah ini merupakan gambar dari beberapa sampel uji yang hasilnya positif



(a)



(b)



(c)

Setiap sampel yang hasil uji penduganya positif kemudian dilakukan perhitungan untuk mengetahui nilai MPN.

Hasil uji penduga sampel es batu pada lokasi Pondok Bogor diperoleh bahwa pada jenis es batu balok menunjukkan hasil positif dengan volume berturut-turut (10 mL, 1 mL, 0,1 mL) yaitu pada tabung reaksi sebanyak 3-2-1. Sedangkan untuk nilai *Most Probable Number* (MPN) yang diperoleh dari sampel lokasi Pondok Bogor yaitu es batu balok adalah 1,51/100 mL. Untuk sampel es batu pada Kepuh, diperoleh bahwa es batu balok menunjukkan hasil positif dengan volume berturut-turut (10 mL, 1 mL, 0,1 mL) yaitu pada tabung reaksi sebanyak 3-3-1. Hasil positif pada uji penduga dari sampel ditandai dengan adanya gelembung gas di dalam tabung durham pada tabung reaksi dan terdapat adanya kekeruhan pada sampel. Sedangkan untuk nilai *Most Probable Number* (MPN) yang diperoleh dari sampel lokasi Kepuh yaitu meliputi es batu balok memiliki nilai MPN yang sama yaitu 1,62/100 mL. Sedangkan untuk sampel Nagasari diperoleh bahwa es batu balok menunjukkan hasil positif dengan volume berturut-turut (10 mL, 1 mL, 0,1 mL) yaitu pada tabung reaksi sebanyak 3-3-2. Untuk

nilai *Most Probable Number* (MPN) yang diperoleh dari sampel lokasi Nagasari yaitu 2,76/100 mL.

Hasil uji penduga pada sampel blanko aquadest diperoleh bahwa pada volume berturut-turut (10 mL, 1 mL, 0,1 mL) menunjukkan hasil positif pada tabung reaksi sebanyak 2-1-0. Hasil positif pada uji penduga dari sampel ditandai dengan adanya gelembung gas di dalam tabung durham ada tabung reaksi dan terdapat adanya kekeruhan pada sampel. Sedangkan untuk nilai *Most Probable Number* (MPN) yang diperoleh dari sampel aquadest diperoleh 0,15/100 mL.

Berdasarkan hasil uji penduga dari seluruh lokasi sampel diperoleh bahwa rata-rata hasil uji penduga dari ketiga lokasi sampel tersebut pada hasil positif ditandai dengan adanya gelembung gas di dalam tabung durham pada tabung reaksi, dan terjadinya kekeruhan pada sampel. Pada sampel aquadest juga lebih tepatnya pada volume 10 mL dan 1 mL terdapat hasil yang positif yaitu terbentuknya gelembung dan adanya kekeruhan pada media. Hasil dari sampel ini harusnya negatif, hasil yang menyebabkan positif ini mungkin disebabkan karena adanya kontaminasi baik pada saat proses uji atau saat inkubasi. Karakteristik seperti adanya gelembung, keruh, dan terjadinya perubahan warna tersebut menandakan hasil dari metabolisme bakteri *Coliform* (Tyas *et al.*, 2020). Bakteri *Coliform* mampu memecah laktosa melalui enzim β -galaktosidase, yang menghasilkan asam dan gas sebagai produk fermentasi. Kemudian gas CO_2 yang terbentuk tersebut akan terjebak di dalam tabung durham.

Berdasarkan hasil perhitungan *Most Probable Number* (MPN) dapat dikatakan bahwa semua sampel uji dari berbagai jenis es batu menunjukkan hasil positif mengandung bakteri

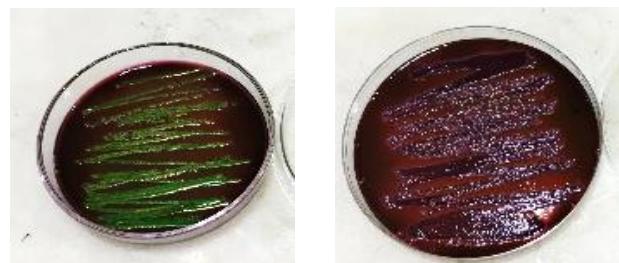
Coliform yang dimana nilainya yaitu $>0/100$ mL. Berdasarkan syarat mutu es batu yang baik menurut Permenkes No.492 tahun 2010 menyatakan bahwa es batu bebas dari kontaminasi *Coliform* nilainya 0/100 mL. Faktor yang dapat mempengaruhi kontaminasi bakteri *Coliform* ini dapat disebabkan karena bahan baku air yang digunakan tidak bersih atau sudah tercemar, proses produksi, dan faktor higieni serta sanitasi pada pihak distributor es batu.

Uji Penegas / Penguat (*Confirmed Test*)

Pengujian yang hasilnya positif pada uji penduga kemudian akan dilanjutkan pada uji selanjutnya yaitu uji penegas atau penguat. Sampel yang positif akan ditumbuhkan pada media Eosin Methylen Blue Agar (EMBA) secara zig-zag, yang kemudian akan di inkubasi selama 24 jam. Hasil uji penegas dalam penelitian ini diperoleh sampel yang positif terdapat adanya bakteri *Coliform* yang ditandai dengan adanya pertumbuhan koloni pada media berwarna hijau metalik dan ungu. Berikut di bawah ini gambar hasil uji penegas dari beberapa sampel yang menunjukkan hasil positif dan negatif terhadap kontaminasi bakteri *Coliform* :



(a)



(b)

Hijau Metalik

Kehitaman

Adapun hasil uji penegas dari sampel yang telah diujikan adalah uji penegas atau penguat terhadap sampel es batu di lokasi Pondok Bogor menunjukkan bahwa pada jenis es batu balok, hasil positif diperoleh pada sampel balok 2 (10 mL), balok

3 (10 mL), balok 1 (1 mL), balok 2 (1 mL), dan balok 1 (0,1 mL). Hasil positif ini ditandai dengan terbentuknya koloni berwarna hijau metalik dan ungu pada media EMBA. Sementara itu, pada balok 1 (10 mL) tidak ditemukan koloni, sehingga hasilnya dinyatakan negatif. Hasil uji penegas atau penguat terhadap sampel es batu di lokasi Kepuh menunjukkan bahwa pada jenis es batu balok, hasil positif diperoleh pada sampel balok 1 sampai 3 (volume 10 mL), dan balok 1 sampai 3 (volume 1 mL). Hasil positif ini ditandai dengan terbentuknya koloni berwarna hijau metalik dan ungu pada media EMBA. Sementara itu, pada sampel balok 1 (0,1 mL) tidak terdapat adanya koloni, sehingga hasilnya dinyatakan negatif. Hasil uji penegas atau penguat terhadap sampel es batu di lokasi Nagasari menunjukkan bahwa pada sampel jenis es batu balok, hasil positif diperoleh pada sampel es balok 1 dan 2 (10 mL), balok 1 sampai 3 (volume 1 mL), serta balok 1 dan 2 (0,1 mL). Hasil positif ini ditandai dengan terbentuknya koloni berwarna hijau metalik dan ungu pada media EMBA. Sementara itu, pada sampel es balok 3 (10 mL) tidak terdapat adanya koloni sehingga hasilnya dinyatakan negatif.

Hasil uji penegas atau penguat terhadap sampel aquades (blanko) menunjukkan pada sampel aquades 1 dan 2 (volume 10 mL) dan aquades 1 (1 mL) hasilnya tidak terdapat adanya koloni yang tumbuh pada media EMBA sehingga aquades atau blanko ini dinyatakan negatif bakteri *Coliform*.

Koloni yang tumbuh pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) akan menunjukkan warna hijau metalik apabila sampel mengandung bakteri *Coliform*. Koloni berwarna hijau metalik ini diduga merupakan *Escherichia coli*. Warna tersebut merupakan karakteristik *Escherichia coli* dan menandakan tingkat kemampuan fermentasi laktosa

yang baik (Suparno *et al.*, 2022). Kandungan laktosa dalam media EMBA juga dapat dimanfaatkan untuk mengidentifikasi kelompok bakteri berdasarkan cara mereka melakukan fermentasi laktosa (Cahyaningtyas *et al.*, 2024).

Hasil uji penegas menunjukkan bahwa hampir semua es batu dari berbagai lokasi distributor masih mengandung cukup banyak sampel yang positif terhadap bakteri *Coliform*. Berdasarkan PERMENKES Nomor 492/Menkes/PER/IV/2010 tentang kualitas air minum, batas yang diperbolehkan untuk bakteri *Coliform* adalah 0/100 mL. Hasil ini mengindikasikan bahwa sampel es batu yang diuji belum memenuhi syarat untuk dikonsumsi, karena berisiko menimbulkan patogen bagi yang mengkonsumsinya.

Uji Pelengkap

Pada tahap akhir dalam pengujian *Most Probable Number* (MPN) adalah uji pelengkap. Uji ini dilakukan bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri *Coliform* pada sampel dengan menggunakan media *Lactose Broth*. Hasil uji dinyatakan positif apabila pada tabung reaksi ditemukan koloni yang ditandai dengan terbentuknya gelembung gas pada tabung durham, adanya kekeruhan dan perubahan warna pada media. Gelembung gas yang terbentuk disebabkan oleh bakteri *Coliform* yang memfermentasikan media LB yang menghasilkan asam dan gas sebagai hasil samping metabolisme

Hasil uji pelengkap sampel es batu pada lokasi Pondok Bogor diperoleh bahwa pada jenis es batu balok menunjukkan hasil positif pada sampel balok 2 dan 3 (10 mL), serta balok 1 (1 mL). Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung gas didalam tabung durham, terjadinya perubahan warna dan adanya kekeruhan pada media LB. Sedangkan

pada sampel balok 2 (1 mL) dan balok 1 (0,1 mL) tidak terdapat adanya koloni sehingga hasilnya dinyatakan negatif. Hasil uji pelengkap sampel es batu pada lokasi Kepuh diperoleh bahwa pada jenis es batu balok menunjukkan hasil positif pada sampel balok 1 sampai 3 (10 mL), serta balok 2 dan 3 (1 mL). Hasil positif ini ditandai dengan terbentuknya gelembung gas dan terjadinya perubahan warna pada media LB. Sedangkan pada sampel balok 1 (1 mL) tidak terdapat adanya koloni sehingga hasilnya dinyatakan negatif. Hasil positif ini ditandai dengan terbentuknya gelembung gas dan terjadinya perubahan warna pada media. Hasil uji pelengkap sampel es batu pada lokasi Nagasari diperoleh bahwa pada jenis es batu balok menunjukkan hasil positif pada sampel balok 1 dan 2 (10 mL), balok 1 sampai 3 (1 mL), serta balok 1 dan 2 (0,1 mL).

Hasil uji *Most Probable Number* (MPN) pada sampel jenis es batu dari ketiga lokasi distributor menunjukkan bahwa hampir semua sampel es batu positif terkontaminasi oleh bakteri *Coliform*. Es batu yang terkontaminasi oleh bakteri *Coliform* dan kemudian digunakan sebagai bahan tambahan dalam minuman es akan masuk ke dalam saluran pencernaan saat dikonsumsi. Bakteri *Coliform* dapat berkembang biak serta menghasilkan toksin atau langsung menginfeksi dinding usus, yang menyebabkan gangguan pencernaan seperti diare, mual, muntah, dan demam (Dewi, 2022). Selain itu, bakteri ini mampu memfermentasi laktosa menjadi gas dan asam, di mana produksi gas dan asam tersebut merupakan indikator aktivitas metabolismik bakteri yang berpotensi merusak jaringan usus (Hidayati *et al.*, 2022).

Kebersihan peralatan dan bahan merupakan faktor kunci dalam kontaminasi bakteri.

Kontaminasi dapat berasal dari bahan baku dan wadah yang tidak memenuhi standar kebersihan. Misalnya seperti wadah yang digunakan kotor, bahan air yang digunakan keruh, berbau, dan berasa. Faktor lain yang terkait dengan kontaminasi bakteri adalah kebersihan pribadi pejual. Praktik seperti mencuci tangan, mengenakan celemek, penutup kepala, masker, dan sarung tangan oleh penjual dapat membantu mencegah kontaminasi silang (Aji & Fiani, 2021).

Adanya kontaminasi mikrobiologis mengindikasikan bahwa prinsip dasar keamanan pangan belum diterapkan dengan baik, khususnya terkait kebersihan bahan baku, peralatan pengolahan pangan, dan higiene perorangan. Prinsip higiene dan sanitasi pangan yang harus dipatuhi meliputi menjaga kebersihan bahan baku, pengolahan, pendistribusian, penyimpanan, dan penyajian pangan yang baik (Aji & Fiani, 2021).

IDENTIFIKASI BAKTERI *SALMONELLA SP*

Untuk mengidentifikasi bakteri *Salmonella* sp pada sampel es batu dilakukan tiga tahapan pengujian yaitu Uji Pra Pengayaan, Uji dengan media selektif SSA dan Pewarnaan gram. Dibawah ini merupakan penjabaran hasil masing-masing uji yang dilakukan.

Uji Pra – Pengayaan

Pada tahap awal identifikasi bakteri *Salmonella* sp dari sampel es batu yang diperoleh dari distributor di Karangpawitan, dilakukan pengenceran sampel menggunakan larutan NaCl 0,9%. Pengenceran dilakukan secara bertingkat mulai dari 10^{-1} hingga 10^{-3} untuk setiap jenis sampel es batu. Larutan NaCl 0,9% berfungsi menjaga keseimbangan ion dalam sel mikroorganisme serta mencegah kerusakan membran sel yang disebabkan

oleh tekanan osmotik. Selain itu, larutan ini juga mempertahankan kehidupan *Salmonella sp* selama proses pengenceran dan sebelum inokulasi ke media pengayaan seperti *Lactose Broth* (Wardiani *et al.*, 2025).

Hasil uji pengayaan sampel es batu pada lokasi Pondok Bogor diperoleh bahwa pada jenis es batu balok menunjukkan hasil positif pada sampel balok dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Hasil positif ini ditandai dengan terjadinya kekeruhan pada media *Lactose Broth*. Sedangkan pada sampel balok 10^{-3} tidak terdapat adanya koloni (bening) sehingga hasilnya negatif. Hasil uji pengayaan sampel es batu pada lokasi Kepuh diperoleh bahwa pada jenis es batu balok menunjukkan hasil positif pada sampel balok dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Hasil positif ini ditandai dengan terjadinya kekeruhan pada media *Lactose Broth*. Sedangkan pada sampel balok 10^{-3} tidak terdapat adanya koloni (bening) sehingga hasilnya negatif. Hasil uji pengayaan sampel es batu pada lokasi Nagasari diperoleh bahwa pada jenis es batu balok menunjukkan hasil positif pada sampel balok dengan pengenceran 10^{-1} . Hasil positif ini ditandai dengan adanya kekeruhan pada media *Lactose Broth*. Sedangkan pada balok 10^{-2} dan 10^{-3} tidak terdapat adanya koloni (bening) sehingga hasilnya negatif. Hasil uji pengayaan sampel aquadest (blanko) diperoleh bahwa semua seri pengenceran tidak terjadi kekeruhan pada media sehingga hasilnya dinyatakan negatif.

Setelah proses pengenceran dilakukan, larutan hasil pengenceran dari setiap sampel es batu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media *Lactose Broth* dan diinkubasi selama 24 jam. Terjadinya kekeruhan pada media menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri

Salmonella sp dalam sampel. Berdasarkan hasil uji pra-pengayaan, pengenceran pada tingkat 10^{-1} dan 10^{-2} menunjukkan hasil positif yang lebih banyak dibandingkan dengan pengenceran pada tingkat 10^{-3} . Hal ini disebabkan oleh semakin tinggi tingkat pengenceran, jumlah koloni bakteri yang tumbuh semakin berkurang. Secara umum, sel bakteri tersebar secara homogen setelah dilakukan pengenceran bertingkat. Pengenceran dilakukan untuk menumbuhkan koloni bakteri pada media dengan kapasitas terbatas, karena penghitungan langsung pada sampel dengan jumlah bakteri yang sangat banyak tidak memungkinkan. Tujuan utama pengenceran yaitu untuk mengurangi kepadatan bakteri dalam sampel (Laili *et al.*, 2022).

Uji dengan Media Selektif SSA

Hasil positif dari uji pra pengayaan sebelumnya, maka akan dilanjutkan dengan uji identifikasi menggunakan media selektif untuk bakteri *Salmonella sp* yaitu *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Sampel yang menunjukkan hasil positif pada uji pra pengayaan diinokulasikan secara zig-zag ke dalam media SSA, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Hasil uji dinyatakan positif apabila terbentuk koloni berwarna merah muda transparan dan adanya bintik hitam.

Hasil uji menggunakan media selektif SSA pada sampel es batu dari tiga lokasi menunjukkan perbedaan hasil. Lokasi Pondok Bogor, sampel es batu balok dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} memberikan hasil positif, yang ditandai dengan munculnya koloni transparan berwarna merah muda serta adanya bintik hitam pada media SSA. Sementara itu, pada lokasi Kepuh, hasil uji menunjukkan bahwa es batu balok dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Ciri khasnya adalah

terbentuknya koloni transparan berwarna merah muda yang disertai dengan bintik hitam pada media SSA. Pada lokasi Nagasari, hasil uji menunjukkan bahwa sampel es batu balok dengan pengenceran 10^{-1} diperoleh hasil negatif. Hal ini ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni pada media SSA, sehingga menandakan tidak adanya kontaminasi *Salmonella sp* pada sampel tersebut.

Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA) merupakan media khusus yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Salmonella* dan *Shigella*, sehingga menekan bakteri lain agar tidak dapat tumbuh pada media ini. Pertumbuhan bakteri *Salmonella sp* pada media SSA ditandai dengan munculnya koloni berwarna merah muda dengan titik hitam (Fatiqin *et al.*, 2019). Koloni berwarna merah diduga merupakan bakteri *Shigella*, sedangkan koloni berwarna hitam menunjukkan keberadaan bakteri dari genus *Salmonella*. Warna hitam pada koloni *Salmonella* disebabkan oleh kemampuan bakteri tersebut menghasilkan gas H₂S. Komponen utama yang memberikan sifat selektif pada media SSA meliputi laktosa, pepton, garam empedu, besi (III) sitrat, serta indikator *retusal red* (Tuhumury *et al.*, 2022).

Hasil penelitian ini sejalan dengan temuan Cahya *et al* (2019), yang menunjukkan bahwa sampel es batu pada penjual minuman di lingkungan pasar kecamatan jagakarsa, jakarta selatan pada media SSA menghasilkan hasil positif untuk bakteri *Salmonella sp* ditandai dengan munculnya koloni berwarna bintik hitam, sedangkan hasil positif untuk bakteri *Shigella* ditandai dengan terbentuknya koloni transparan berwarna merah muda pada media.

Pewarnaan Gram

Setelah melakukan pengamatan morfologi koloni pada media SSA, langkah selanjutnya adalah melakukan pewarnaan gram untuk menentukan sifat gram dari *Salmonella*. Pewarnaan ini bertujuan untuk memastikan bahwa bakteri tersebut tergolong dalam kelompok gram negatif dengan mengambil koloni yang tumbuh secara terpisah. Hasil uji pewarnaan gram pada sampel es batu dari lokasi Pondok Bogor menunjukkan bahwa jenis es batu balok dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Hasil positif ditandai dengan adanya koloni berbentuk basil dan berwarna merah muda yang terlihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pada hasil tersebut mengindikasikan bahwa sampel terkontaminasi oleh bakteri *Salmonella sp* yang merupakan bakteri golongan gram negatif. Sementara itu, hasil uji pewarnaan gram pada sampel es batu dari lokasi Kepuh menunjukkan hasil positif pada jenis es batu balok dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Hasil positif ditandai dengan adanya koloni berbentuk basil dan berwarna merah muda yang terlihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali. Pada hasil tersebut mengindikasikan bahwa sampel terkontaminasi oleh bakteri *Salmonella sp* yang merupakan bakteri golongan gram negatif.

Pewarnaan gram bertujuan untuk mengklasifikasikan bakteri menjadi dua kelompok, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif, berdasarkan perbedaan struktur dan komposisi dinding selnya. Prinsip utama dari pewarnaan ini didasarkan pada kemampuan bakteri mempertahankan kompleks kristal violet-iodin setelah perlakuan dengan alkohol 96%. Bakteri yang tidak mampu mempertahankan warna kristal violet dikategorikan sebagai gram negatif, sedangkan bakteri yang tetap mempertahankan warna tersebut

setelah pencucian dengan alkohol diklasifikasikan sebagai gram positif (Wahyuni *et al.*, 2022).

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari setiap uji, terlihat bahwa sampel es batu jenis balok menunjukkan hasil uji positif di setiap ujinya. Temuan ini sejalan dengan penelitian Azhari *et al* (2022), hasil pengujian es batu menunjukkan bahwa uji warna, bau, dan rasa tidak sesuai dengan standar. Memiliki kadar besi yang tidak sesuai, memiliki hasil positif pada bakteri *Coliform* dan *Salmonella*. Hal ini mengindikasikan bahwa es batu balok lebih rentan terhadap kontaminasi bakteri patogen seperti *Coliform* dan *Salmonella*.

Perbedaan jumlah keberadaan *Coliform* dan *Salmonella* sp yang mencemari es batu kemungkinan besar dipengaruhi oleh jenis air yang digunakan sebagai bahan baku. Banyak pedagang menggunakan air yang tidak memenuhi standar, seperti air mentah, air bor, air sumur, yang tidak sesuai dengan ketentuan kualitas air minum berdasarkan Permenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010 mengenai syarat mutu air minum yang melewati proses pengolahan yang benar. Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Nur & Winarsih (2018), yang menyatakan bahwa keberadaan bakteri dalam sampel es batu disebabkan oleh penggunaan air yang belum memenuhi standar kualitas air minum. Air yang telah tercemar sangat berisiko menjadi media penularan berbagai penyakit karena jika digunakan oleh manusia dapat menimbulkan gangguan kesehatan penyakit enterik (Djana, 2023).

Selain kualitas air, proses produksi, pengemasan, dan distribusi juga menjadi faktor yang berkontribusi terhadap kontaminasi es batu. Pada penelitian Sitorus *et al* (2024), menunjukkan bahwa wadah penyimpanan yang tidak higienis dapat

menjadi sumber pertumbuhan bakteri penyebab penyakit. Filter yang jarang diganti dapat menjadi tempat berkembangnya mikroorganisme. Pada proses pengemasan dan kebersihan diri oleh pekerja yang terlibat juga dapat menjadi faktor kontaminasi. Distribusi es batu berisiko menambah tingkat pencemaran karena produsen dapat membawa mikroorganisme secara tidak sengaja selama proses pengangkutan. Melihat di lapangan masih sering menunjukkan es batu dikemas dalam plastik lalu diseret di lantai sebelum dimasukkan ke dalam truk. Kendaraan pengangkut juga kotor, dan tidak mampu menjaga suhu rendah sehingga es batu mencair dan meningkatkan risiko kontaminasi.

Pada lokasi distributor es batu Pondok Bogor dan Kepuh keduanya memiliki lokasi yang dekat dengan jalan sehingga hal tersebut menjadi faktor yang dapat menyebabkan terjadinya kontaminasi bakteri pada es batu. Menurut penelitian Hamida (2024), menyatakan bahwa faktor lokasi berjualan di tepi jalan meningkatkan risiko kontaminasi akibat debu dan kotoran yang mudah masuk dan mencemari es batu. Sedangkan pada lokasi distributor Nagasari lokasinya tidak dekat dengan jalan sehingga hal ini dapat mengurangi potensi kontaminasi pada es batu lebih rendah. Berdasarkan hasil observasi diketahui bahwa proses pendistribusian (distributor ke penjual) es batu balok di ketiga lokasi masih belum memenuhi standar kebersihan.

Pada wadah penyimpanan es batu dari ketiga titik lokasi distributor menggunakan *freezer box*. Hasil observasi menunjukkan bahwa beberapa *freezer box* tampak kurang terjaga kebersihannya, dengan bagian luar yang terlihat kotor dan sedikit berkarat. Kondisi wadah penyimpanan seperti ini perlu mendapat perhatian khusus karena dapat

menjadi sumber kontaminasi bakteri pada es batu. Selain itu penyimpanan yang tidak tertutup rapat berisiko terkena paparan polusi lingkungan, dan menarik serangga pembawa penyakit seperti lalat yang dapat membawa bakteri dan hinggap langsung pada es batu yang tidak terlindungi dengan baik (Arnawa *et al.*, 2023).

PENUTUP

Terdapat kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Salmonella sp* pada sampel jenis es batu di wilayah Karangpawitan. Sampel es batu balok dari Pondok Bogor dan Kepuh menunjukkan kontaminasi *Coliform*. Sampel es batu balok di Nagasari juga terdapat kontaminasi. Pada pengujian *Salmonella sp*, es batu balok lokasi Pondok Bogor menunjukkan kontaminasi *Salmonella*. Pada lokasi Kepuh semua sampel positif, sedangkan pada Nagasari semua sampel negatif *Salmonella*. Temuan ini memberikan gambaran awal mengenai kualitas mikrobiologis es batu balok di wilayah Karangpawitan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, O. R., & Fiani, N. N. (2021). Deteksi Keberadaan *Coliform* Dan *Escherichia Coli* Pada Es Batu Dari Penjual Minuman Di Sekitar Kampus 4 Universitas Ahmad Dahlan. *Metamorfosa:Journal Of Biological Sciences*, 8(September), 222–229. <https://Doi.Org/10.24843/Metamorfosa.2021.V08.I02.P05>
- Azhari, M., & Febriansyah Sengaji, R. (2023). Antimicrobial Activity Of Turmeric, Ginger, And Galangal Rhizome Ethanol Extracts In Combination Using The Checkerboard Method. *Journal Borneo*, 3(3), 139–148. <Https://Doi.Org/10.57174/J.Born.V3i3.108>
- Cahya, T., Amir, M., & Manalu, R. T. (2019). *Uji Cemaran Mikroba Es Batu Pada Penjual Minuman Di Lingkungan Pasar Kecamatan Jagakarsa , Jakarta Selatan Microbial Contamination Test Of Ice Cubes In Beverages In The Jagakarsa Sub-District Market Area In South Jakarta*. 12(2), 78–84.
- Cahyaningtyas, D. E., Gaina, C. D., & Tangkoda, E. (2024). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli*, *Klebsiella Sp.*, Dan *Staphylococcus Aureus* Pada Ambing Dan Susu Kambing Peranakan Etawa. *Jurnal Veteriner Nusantara*, Vii(04), 1–11.
- Djana, M. (2023). *Analisis Kualitas Air Dalam Pemenuhan Kebutuhan Air*. 8(32), 81–87.
- Dwitami, A. R., & Wijayanti, D. R. (2024). *Analisis Cemaran Bakteri Coliform Dan Escherichia Coli Dari Sampel Es Batu Pada Pedagang Minuman Kaki Lima Di Sekitar Pasar Ciracas Jakarta Timur Menggunakan Metode Most Probable Number (Mpn)*. 10, 194–201.
- Fatiqin, A., Novita, R., Apriani, I., Biologi, P., Islam, U., Raden, N., & Palembang, F. (2019). Pengujian *Salmonella* Dengan Menggunakan Media Ssa Dan E.Coli Menggunakan Media Emba Pada Bahan Pangan. *Jurnal Indobiosains*, 1(1), 22–29.
- Hidayah, H., Lidia, I., Mursal, P., Susaningsih, H. A., & Amal, S. (2022). *Analisis Cemaran Bakteri Coliform Dan Identifikasi Escherichia Coli Pada Es Batu Balok Di Kota Karawang*. 7(1), 54–68.
- Hidayati, I., Wati, R. I., & Faizah, H. (2022). *Al-Ard : Jurnal Teknik Lingkungan Analisis Total Bakteri Coliform Dan Identifikasi*

- Escherichia Coli Pada Makanan Dan Minuman Di Kantin X.* 8(1), 26–34.
- Laili, N. H., Abida, I. W., Junaidi, A., Studi, P., Sumberdaya, M., Pertanian, F., Madura, U. T., & Timur, J. (2022). *Nilai Total Plate Count (Tpc) Dan Jumlah Jenis Bakteri Air Limbah Cucian Garam (Bittern) Dari Tambak Garam Desa Banyuajuh Kecamatan Kamal Kabupaten Bangkalan Total Plate Count (Tpc) Value And Number Of Types Of Bacteria Waste Water.* 3(1), 26–31.
- Siti, E., & Roka, O. (2021). *Quagga : Jurnal Pendidikan Dan Biologi Analisis Keberadaan Coliform Dan Escherichia Coli Pada Es Batu Dari Jajanan Minuman Di Pasar Tengah Bandar Lampung Quagga : Jurnal Pendidikan Dan Biologi.* 13, 74–81. <Https://Doi.Org/10.25134/Quagga.V13i1.3698>.Received
- Suparno, A. C., Kasasiah, A., & Ratnasari, D. (2022). Isolation Of Escherichia Coli In Raw Water Sources And Resistance Assay For Ampicillin And Ceftriaxone. *Journal Of Pharmaceutical And Sciences (Jps),* 5(2), 265–273.
- Tuhumury, F. D. A., Kaihena, M., & Anna, C. (2022). Analisa Total Bakteri Salmonella Spp . Pada Produk Ikan Cakalang Asap Yang Dijual Pada Beberapa Pasar Di Kota Ambon Program Studi Biologi , Jurusan Biologi , Fmipa , Universitas Pattimura , Indonesia Pendahuluan Indonesia Memiliki Kandungan Sumber Daya Al. *Bioscientist : Jurnal Ilmiah Biologi,* 10(2), 682–694.
- Tyas, F., Miranti, M., Biologi, D., Matematika, F., & Alam, P. (2020). Metode Most Probable Number (Mpn) Sebagai Dasar Uji Kualitas Air Sungai Rengganis Dan Pantai Timur Pangandaran Dari Cemaran *Coliform* Dan Escherichia Coli Most Probable Number (Mpn) Method As A Basic Test Of *Coliform* And Escherichia Coli Pollution. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada : Jurnal Ilmu Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi,* 20(1), 21–30.
- Wahyuni, S., Ak, M. D., Jalaluddin, M., & Helmi, T. Z. (2022). Isolasi *Salmonella* Sp . Dan Prevalensinya Pada Tembolok (Ingluviens) Ayam Buras Dan Ayam Ras Di Pasar Ayam Peunayong Kota Banda Aceh Isolation Of *Salmonella* Sp . And Prevalence From Crops (Ingluviens) In Local Chicken And Broiler In Poultry Market Peu. *Jurnal Sain Veteriner,* 40(3).
- Wardiani, Z., Khoirunnisa, H., & Sopiah, P. (2025). *Mekanisme Keracunan Makanan Pada Tubuh Manusia Akibat Bakteri Salmonella.* 6, 4364–4373.
- Zahra, I., Palupi, C., Arifianto, N., Sunan, A., Ponorogo, G., Batoro, J., & Ponorogo, K. (2019). Pemeriksaan Angka Lempeng Total (Alt) Dan Most Probable Number (Mpn) Bakteri *Escherichia Coli* Pada Es Batu Balok Dan Es Batu Kristal *Abstrak.* 8(1), 21–25.