

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Gambaran Umum

Penelitian ini adalah penelitian yang dilakukan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) dalam es batu yang dijual di warung makan yang berbeda di sepanjang Jalan Bumi, Kelurahan Oesapa Selatan, Kecamatan Kelapa Lima, Kota Kupang. Penelitian ini secara khusus menyelidiki kontaminasi *E. coli* pada es batu yang dibuat dari air matang dan air minum isi ulang. Sebanyak 20 sampel es batu dikumpulkan dari 20 warung makan yang berbeda sebagai bahan uji dalam penelitian ini. Maka dilakukan penelitian di Laboratorium Bakteriologi Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Kupang dengan beberapa tahapan identifikasi yang dilakukan melalui serangkaian uji mikrobiologi yang meliputi penanaman pada media *Lactose Broth* (LB), *EMBA*, *Endo* agar, pewarnaan Gram, dan uji biokimia.

B. Hasil dan Pembahasan

1. Identifikasi cemaran bakteri *E. coli* pada es batu

a. Uji pada media *Lactosa Broth* (LB)

Media *Lactosa Broth* merupakan salah satu media yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri coliform dalam sampel air, makanan, atau produk susu. Tanda adanya coliform ditunjukkan oleh terbentuknya asam yang menyebabkan media menjadi keruh serta munculnya gas pada tabung Durham. Hasil

pengujian pada media *Lactosa broth* di 20 sampel dapat dilihat pada gambar 11 berikut.



Gambar 11. Hasil uji media LB

Tabel 4.1 Hasil Uji Cemaran bakteri *Escherichia coli* menggunakan media LB pada es Batu di Jalan Bumi Kelurahan Oesapa Selatan Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang pada Tahun 2025

Uji media LB	Jumlah sampel
Positif	20 sampel
Negatif	0 sampel

Berdasarkan Tabel 4.1 didapatkan hasil positif adanya pertumbuhan bakteri coliform pada 20 sampel es batu ditandai dengan media menjadi keruh dan terbentuknya gas pada tabung Durham yang ditunjukkan pada (gambar 11).

Lactosa Broth merupakan salah satu jenis media yang dipakai untuk mendeteksi keberadaan *Coliform* dalam sampel seperti air, makanan, atau produk susu. Formula *Lactosa broth* terdiri dari 3 gram ekstrak daging sapi, 5 gram pepton, dan 5 gram laktosa.

Sapi serta pepton berperan sebagai sumber nutrisi yang krusial untuk proses metabolisme mikroorganisme. Laktosa berfungsi

sebagai sumber karbohidrat bagi mikroorganisme yang memiliki kemampuan untuk memfermentasi laktosa, termasuk bakteri *Coliform*. Keberadaan *coliform* dapat dikenali melalui produksi asam yang menyebabkan keruhnya media serta gas yang terbentuk di dalam tabung durham. Harus diingat bahwa dalam media *Lactosa broth*, tidak selalu ada pembentukan gas di tabung durham yang menandakan keberadaan bakteri *coliform*, karena bakteri asam laktat juga dapat menghasilkan gas melalui fermentasi laktosa (Dwitami, dkk., 2024). Oleh karena itu di perlukan pengujian tambahan atau tes konfirmasi.

Dalam penelitian ini media LB yang digunakan sebanyak 5 ml yang dimasukkan ke dalam 20 tabung sesuai dengan jumlah sampel kemudian di tambahkan 1 ml sampel es batu, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Sampel dianggap positif dan bisa dilanjutkan ke tahap pengujian berikutnya jika terlihat pertumbuhan bakteri, yang ditunjukkan dengan adanya gas dalam tabung durham dan media menjadi keruh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua sampel es batu yang diuji menggunakan media LB memberikan hasil positif, yang ditandai dengan media menjadi keruh dan terbentuknya gas di dalam tabung durham (Safira, dkk., 2016).

b. Uji pada media EMBA dan ENDO

Media selektif EMBA (Eosin Methylene Blue Agar) dan ENDO Agar merupakan media selektif yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme tertentu terutama bakteri Gram negative, sekaligus

menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif (Cahyaningtyas, dkk, 2024). Hasil pengujian pada media EMBA dan ENDO di 20 sampel dapat dilihat pada gambar 12 berikut.



Gambar 12. Hasil uji media EMBA dan ENDO

Tabel 4.2 Hasil uji cemaran bakteri *Escherichia coli* menggunakan media selektif pada Es batu di Jalan Bumi Kelurahan Oesapa Selatan Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang pada Tahun 2025

Uji media EMBA dan ENDO	Jumlah sampel positif	Jumlah sampel negative
Media EMBA	3 sampel	17 sampel
Media ENDO	20 sampel	0 sampel

Ciri ciri koloni bakteri *E. coli* pada media EMBA biasanya memiliki bentuk bulat, permukaan cembung, tekstur halus, tepi rata, dan berwarna hijau metalik (Cahyaningtyas, dkk., 2024). Sementara pada media ENDO, koloni *E. coli* tampak lebih besar, cembung, halus (smooth), dan berwarna merah tua dengan kilau metalik (Indrayati & Akma, 2018). Berdasarkan tabel 4.2 hasil uji menggunakan media EMBA 3 sampel menunjukkan ciri-ciri koloni bakteri *E. coli* dan 17 sampel bukan menunjukkan ciri-ciri koloni bakteri *E. coli*, sedangkan

pada media ENDO 20 sampel menunjukkan ciri-ciri dari koloni bakteri *E. coli*, hasil terlihat pada gambar 12.

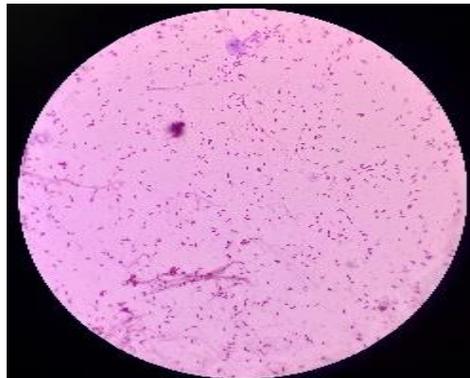
Untuk memastikan adanya bakteri *Escherichia coli*, tahap berikutnya adalah melakukan pengujian lanjutan menggunakan media EMBA dan ENDO. Prosedurnya dilakukan dengan mengambil satu ose dari koloni bakteri yang menunjukkan hasil positif pada media LB, khususnya dari tabung yang memiliki jumlah gas terbanyak dalam tabung Durham dan tingkat kekeruhan tertinggi. Koloni yang diambil kemudian ditanam pada media EMBA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Arnawa, dkk., 2023). Dari 20 sampel Es batu yang diuji, ditemukan 3 sampel dengan koloni berwarna hijau metalik, yang merupakan ciri khas bakteri *E. coli*, sedangkan 16 sampel lainnya tidak menunjukkan karakteristik *E. coli*. Kemudian pada media ENDO, diambil 1 ose koloni bakteri dari tabung yang positif media LB yang memiliki gas dan kekeruhan lalu digoreskan pada media ENDO dan diinokulasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dari 20 sampel es batu yang telah diinokulasi menunjukkan hasil positif merupakan ciri khas dari bakteri *E. coli*.

Endo agar adalah media padat yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri *E. coli*. Media ini bersifat selektif karena mendukung pertumbuhan bakteri Gram negatif dan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Selain itu, Endo agar mengandung laktosa yang berfungsi untuk membedakan

mikroorganisme berdasarkan kemampuan mereka dalam memfermentasi laktosa. Mikroorganisme seperti *E. coli* yang dapat memfermentasi laktosa akan menunjukkan perubahan warna yang khas pada media. Koloni *E. coli* pada Endo agar biasanya tampak berwarna merah metalik (*metallic sheen*). Melalui hasil positif yang terlihat pada cawan petri, media ini membantu mengidentifikasi jenis bakteri *E. coli* dengan lebih jelas (Safira, dkk., 2023).

c. Pewarnaan Gram dan pengamatan morfologi bakteri

Pewarnaan Gram merupakan metode yang dipakai untuk mengelompokkan mikroorganisme ke dalam dua kategori, yaitu Gram positif dan Gram negative (Cahyaningtyas, dkk., 2024). Hasil pengujian pada pewarnaan gram di 20 sampel dapat dilihat pada gambar 13 berikut.



Gambar 13. Hasil pewarnaan Gram bakteri *E. coli* yang diamati di bawah mikroskop

Tabel 4.3 Hasil pengamatan morfologi bakteri *Escherichi coli* melalui mokroskop pada es batu di Jalan Bumi Kelurahan Oesapa Selatan Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang pada Tahun 2025

Pewarnaan Gram	Jumlah sampel
Positif	20 sampel
Negatif	0 sampel

Berdasarkan Tabel 4.3 menunjukkan hasil pengamatan morfologi bakteri yaitu 20 sampel es batu memiliki hasil yang sama yaitu bakteri berbentuk *Coccobacil*, berwarna merah, tidak berspora, gram negatif, Uji biokimia (IMVIC) dilakukan untuk memastikan sifat sifat kimia dari bakteri *Escherichia coli*.

Pewarnaan Gram adalah teknik yang digunakan untuk mengkategorikan organisme menjadi dua kelompok, yaitu Gram positif dan Gram negatif. Pengelompokan ini dilakukan berdasarkan komposisi kimia serta ketahanan struktural dinding sel bakteri. Proses pewarnaan Gram dipengaruhi oleh reaksi dinding sel bakteri terhadap safranin dan kristal violet.

Hasil yang di dapatkan pada pengamatan morfologi bakteri didapatkan 20 sampel menunjukkan ciri- ciri warna merah berbentuk *cocobasil* tidak berspora gram Negative yang diduga merupakan ciri dari bakteri *E. coli*. Dalam pewarnaan Gram, bakteri yang tergolong Gram negatif akan kehilangan pewarna kristal violet setelah proses pencucian menggunakan alkohol, dan saat diberikan pewarna sekunder berupa safranin, akan muncul warna merah. Perubahan

warna ini terjadi karena komposisi kimia pada dinding sel bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram negatif terdapat satu atau lebih lapisan peptidoglikan dan membran luar (Tivani, dkk., 2019).

d. Uji pada Biokimia

Uji IMVIC merupakan salah satu cara untuk mengidentifikasi bakteri *E. coli* metode ini terdiri dari beberapa pengujian, yaitu uji Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, dan Citrate. Setiap uji dilakukan untuk menentukan apakah hasilnya positif atau negative, yang kemudian ditafsirkan berdasarkan sifat biokimia bakteri tersebut (Cahyaningtyas, dkk., 2024). Hasil pengujian pada media biokimia di 20 sampel dapat dilihat pada gambar 14 berikut.



Gambar 14. Hasil uji Biokimia

Tabel 4.4 Hasil Uji cecaran bakteri *Escherichia coli* menggunakan media biokimia pada es batu di Jalan Bumi Kelurahan Oesapa Selatan Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang pada Tahun 2025

Uji Biokimia	Jumlah sampel
Positif	0 sampel
Negatif	20 sampel

Ciri-ciri reaksi biokimia pada bakteri *E. coli* yaitu indol (+), MR (+), VP (-), Citrat (-), dan TSIA (-). Berdasarkan tabel 4.4 hasil yang di dapatkan dari uji media biokimia sampel es batu negativ tidak mengandung *E. coli*, hasil ditunjukkan pada (gambar 14).

E. coli merupakan mikroorganisme yang dapat bersifat oportunistis dan sering ditemukan dalam usus besar manusia sebagai bagian dari flora normal. Salah satu metode untuk mengenali bakteri *E. coli* adalah melalui uji IMVIC. Metode ini mencakup uji indol, uji methyl red, uji voges proskauer, serta uji citrate. Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi apakah reaksi tersebut positif atau negatif yang akan ditafsirkan berdasarkan karakteristik biokimia dari bakteri, sehingga dapat membantu dalam klasifikasi bakteri yang diidentifikasi. Hasil positif pada uji *Indol* ditandai dengan adanya perubahan warna menjadi merah tua di permukaan media, sementara uji *citrat* dianggap positif jika berwarna biru, uji *methyl red* positif jika berwarna merah, dan uji *voges proskauer* positif jika menunjukkan warna merah muda. Uji IMVIC dianggap menunjukkan hasil positif untuk *E. coli* jika uji indol bernilai positif (+), uji *methyl*

red juga menunjukkan positif (+), uji *voges proskauer* negatif (-), dan uji *citrate* juga negatif (-) (Nur & Winarsih, 2018).

Berdasarkan hasil pengujian Biokimia dari 20 sampel Es batu yang diuji didapati hasil negative *E. coli* ditandai dengan hasil pada uji biokimia tidak menunjukkan ciri dari bakteri *E. coli* yang mencemari Es batu, dilihat dari uji biokimia ciri ciri bakteri yang ditemukan yaitu bakteri *Salmonella* yang menunjukkan pada uji biokimia ciri ciri dari bakteri *Salmonella* di tandi pada uji Indol (-), Mr (+), Vp (-), Sc (+).

2. Menilai standar kelayakan Es batu

Standar baku mutu kesehatan lingkungan media Air Minum ini sebagai acuan bagi penyelenggara air minum. Berdasarkan Peraturan Permenkes Nomor 2 Tahun 2023, tentang batas cemaran bakteri *E. coli* pada es batu harus memenuhi syarat air minum. Parameter mikrobiologi untuk kelayakan air minum tidak boleh mengandung bakteri *Escherichia coli* dalam volume 100/ml.

Dari 20 sampel es batu yang di jual pada warung makan Jalan Bumi Kelurahan Oesapa Selatan Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang, dinyatakan negatif tidak mengandung bakteri *E. coli*. Berdasarkan Peraturan Permenkes Nomor 2 Tahun 2023, tentang batas cemaran bakteri *E. coli* pada es batu harus memenuhi syarat air minum. Parameter mikrobiologi untuk kelayakan air minum tidak boleh mengandung bakteri

Escherichia coli dalam volume 100/ml, maka sampel es batu dinyatakan layak untuk dikonsumsi.

Menurut (Dewi, 2019) dari 15 sampel es batu yang diteliti, hanya satu sampel yang memenuhi standar mutu mikrobiologis dengan tidak ditemukannya bakteri *coliform* maupun *coliform fekal*. Sementara itu, 14 sampel lainnya belum memenuhi ketentuan yang berlaku. Kondisi ini disebabkan oleh kurangnya perhatian pedagang terhadap aspek sanitasi dan kebersihan selama proses pembuatan es batu, mulai dari kualitas air yang digunakan hingga kebersihan peralatan dan wadah penyimpanan.

Menurut penelitian terdahulu menunjukkan bahwa terdapat cemaran *E. coli* pada sampel es batu yang diambil pada warung makan di Kabupaten Bangli, yakni sebanyak 5 sampel (16,67%). Hasil penelitian ini dinyatakan tidak sejalan dengan penelitian yang telah dilakukan bahwa tidak ditemukan cemaran *E. coli* pada 20 sampel es batu yang dijual di warung makan Jalan Bumi Kelurahan Oesapa Selatan Kecamatan Kelapa Lima Kota Kupang.