

Detection of *Coliform* and *Escherichia coli* Contamination in Iced Tea Beverages in City X

Deteksi Cemarkan Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada Minuman Es Teh di Kota X

Adel Hening Pangesti ^a, Peni Indrayudha ^{a*}

^a Department of Pharmacy, Faculty of pharmacy, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta, Jawa Tengah, Indonesia.

*Corresponding Authors: peni.indrayudha@ums.ac.id

Abstract

Iced tea is a popular and refreshing beverage commonly sold by street vendors. However, because the production process utilizes water and relies on the level of hygiene during processing, there remains a risk of bacterial contamination. This study aims to determine the level of bacterial contamination, specifically *Coliform* and *Escherichia coli*, in iced tea samples sold in X City, in accordance with food safety standards. This study was conducted using the *Most Probable Number* (MPN) method with three dilution series. The presence of *Coliform* was identified using a presumptive test with *Lactose Broth* (LB) media and a confirmatory test with *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) media. The presence of *Escherichia coli* was identified using *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) media and biochemical tests using *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) media. Samples were taken from 10 different locations spread across 5 subdistricts in X City, with 2 samples taken from each subdistrict. The results showed that there was *Coliform* bacterial contamination in 10 samples and *Escherichia coli* bacterial contamination in 6 of the 10 iced tea samples in X City with MPN values ranging from 3-460 MPN/100 mL. Based on the Mann-Whitney test, a p-value of 0.004 ($p < 0.05$) was obtained, indicating a significant difference in MPN values between *Escherichia coli*-positive and negative samples. These results indicate that all samples did not meet the microbiological quality requirements based on Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 2 of 2023, which stipulates that the maximum allowable levels of total *Coliform* and *Escherichia coli* in drinking water is 0 MPN/100 mL.

Keywords: *Coliform*, *Escherichia coli*, Iced Tea, MPN

Abstrak

Es teh menjadi minuman populer yang digemari oleh masyarakat karena memiliki rasa yang menyegarkan dan mudah dijumpai. Namun, karena proses produksi menggunakan air dan bergantung pada tingkat kebersihan selama pengolahan, risiko kontaminasi bakteri tetap terjadi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan tingkat kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada sampel es teh yang dijual di Kota X berdasarkan standar keamanan pangan. Pengujian dilakukan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) melalui tiga seri pengenceran untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri *Coliform* pada sampel. Tahap pendugaan dilakukan menggunakan media *Lactose Broth* (LB), sedangkan tahap penguat menggunakan media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB). Keberadaan *Escherichia coli* diidentifikasi menggunakan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan uji biokimia menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Sampel diambil dari 10 lokasi berbeda yang tersebar di 5 Kecamatan di Kota X, dengan masing-masing diambil 2 sampel setiap kecamatan. Hasil penelitian, terdeteksi adanya kontaminasi bakteri *Coliform* pada 10 sampel dan bakteri *Escherichia coli* pada 6 dari 10 sampel es teh yang di Kota X dengan nilai MPN berkisar antara 3-460 MPN/100 mL. Berdasarkan uji Mann-Whitney diperoleh nilai $p = 0.004$ ($p < 0.05$) yang menunjukkan adanya perbedaan nilai MPN yang signifikan antara sampel yang positif *Escherichia coli* dan sampel yang negatif. Hasil ini menunjukkan bahwa seluruh sampel tidak memenuhi persyaratan kualitas mikrobiologis berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 yang menetapkan bahwa nilai ambang batas *Coliform* total dan *Escherichia coli* pada air minum ditetapkan sebesar 0 MPN/100 mL.

Kata Kunci: *Coliform*, *Escherichia coli*, Es Teh, MPN



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 17/09/2025,
Revised: 02/12/2025,
Accepted: 03/12/2025,
Available Online: 04/12/2025.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i4.1155>

Pendahuluan

Minuman jajanan olahan adalah minuman yang dibuat dengan memanfaatkan air yang diolah melalui proses pengolahan yang masih sangat dasar [1]. Es teh menjadi minuman populer yang disukai oleh masyarakat luas karena rasanya yang menyegarkan dan mudah dijumpai [2]. Namun, karena proses produksi menggunakan air dan bergantung pada tingkat kebersihan selama pengolahan, risiko kontaminasi bakteri tetap terjadi. Oleh karena itu, pentingnya menjaga kebersihan dan sanitasi yang baik perlu ditekankan untuk mencegah kontaminasi dari bahan baku, peralatan, lingkungan, dan pekerja, untuk mengurangi risiko gangguan kesehatan dan keracunan bagi konsumen [3]. Kontaminasi juga dapat terjadi akibat lingkungan penjualan yang tidak higienis. Es teh yang dijual di pinggir jalan ramai, berdekatan dengan lokasi pembuangan sampah berpotensi tercemar debu dan mikroorganisme sekitar lingkungan. Hal tersebut mendorong hadirnya serangga sebagai perantara penyebaran bakteri patogen. Selain itu, pemakaian air yang kualitasnya tidak terjamin karena keterbatasan fasilitas juga menjadi sumber kontaminasi mikrobiologis [4].

World Health Organization (WHO) mencatat bahwa setiap tahunnya, sekitar 600 juta orang mengalami gangguan kesehatan dan 420.000 diantaranya meninggal akibat mengonsumsi makanan yang tidak aman. Akibatnya, sekitar 33 juta tahun kehidupan sehat hilang setiap tahunnya. Laporan data Riskesdas tahun 2018 menyebutkan bahwa prevalensi kejadian diare di Indonesia mencapai angka 1.017.290 dengan jumlah prevalensi kejadian diare di Provinsi Jawa Tengah mencapai sekitar 132.565. Angka ini menunjukkan bahwa provinsi Jawa Tengah memiliki peringkat ke-3 dengan prevalensi kejadian diare terbanyak dari 34 provinsi di Indonesia. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik Kota X, kasus diare di Kota X menunjukkan kenaikan sebanyak 58,6% pada tahun 2024 dibandingkan tahun 2023. Hal ini menunjukkan adanya kenaikan kontaminasi bakteri yang disebabkan karena konsumsi pangan yang tidak higienis. Kebiasaan masyarakat mengonsumsi makanan dan minuman yang tidak higienis ini memicu timbulnya penyakit yang ditimbulkan melalui air, salah satunya diare. Kondisi diare ditandai oleh frekuensi buang air besar yang meningkat, dengan bentuk tinja yang cenderung cair [5].

Ditemukannya bakteri *Coliform* menjadi indikator bahwa bahan pangan telah mengalami kontaminasi akibat praktik sanitasi yang kurang higienis. Semakin rendah tingkat bakteri *Coliform*, semakin baik kualitas airnya [6]. *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang yang tidak menghasilkan spora dan mampu memfermentasi laktosa. Bakteri ini tahan terhadap kondisi asam dan dapat hidup pada rentang pH 4,4–10, tetapi akan mati ketika dipanaskan. Strain yang paling sering dikaitkan dengan kasus keracunan makanan adalah *Escherichia coli* O157:H7. Keberadaan *Escherichia coli* juga digunakan sebagai indikator mutu air dan pangan karena menunjukkan adanya kontaminasi yang berasal dari feses [7].

Berdasarkan penelitian Agustina tahun 2018 [8], responden pada penelitian yang dilakukan di Desa Pasayangan Barat mengalami kejadian *waterborne disease* seperti penyakit diare (70%) dan typhus (30%). Air yang terkontaminasi mikroorganisme patogen memiliki potensi menimbulkan *waterborne disease* apabila dikonsumsi. Penyakit ini ditandai dengan gejala diare, berisiko menyebabkan dehidrasi, dan dalam kasus tertentu dapat berakibat fatal. Berdasarkan penelitian Wahyuningsih tahun 2019 [9], sejumlah sampel es teh di kampus STIKES Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun diketahui positif mengandung bakteri *Escherichia coli* dengan nilai MPN berkisar antara 25 hingga 1800 sel per 100 mL.

Kota X dipilih sebagai lokasi penelitian karena wilayah ini memiliki angka kejadian diare yang cukup tinggi berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik Kota X. Banyaknya penjual minuman es teh di Kota X

meningkatkan potensi kontaminasi mikrobiologis akibat proses produksi yang tidak higienis. Selain itu, hingga saat ini belum ada penelitian yang menunjukkan tingkat kontaminasi minuman terutama es teh di Kota X. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan guna menganalisis tingkat kontaminasi bakteri Coliform dan *Escherichia coli* pada sampel minuman es teh yang beredar di Kota X berdasarkan persyaratan mikrobiologis yang ditetapkan oleh Peraturan Menteri Kesehatan No.2 Tahun 2023 tentang persyaratan kualitas air minum.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian non eksperimental yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada sampel es teh yang dijual di Kota X. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan antara lain mikropipet 100 μ L-1000 μ L (Socorex) dan blue tip (Onemed), alat-alat gelas (Iwaki, Pyrex), inkubator (Mettler), oven (Mettler), autoklaf (Hirayama), ose jarum dan bulat, *Laminar Air Flow* (CV. Srikandi Laboratory), mikroskop (Olympus), dan timbangan analitik (Ohaus). Bahan yang digunakan antara lain sampel es teh yang diambil dari 5 kecamatan di Kota X, KH_2PO_4 (Merck), media *Lactose Broth* (LB) (Oxoid), media *Brilliant Green Bile Lactose Broth* (BGLB) (Oxoid), media *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid), media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) (Himedia), media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) (Himedia), akuades, dan alkohol 70%.

Pengambilan Sampel

Sampel diperoleh melalui metode *purposive sampling*, yakni dengan memilih 20 sampel, yang berasal dari 10 lokasi berbeda (2 sampel tiap lokasi), diambil pada hari yang berbeda untuk melihat variasi dalam hasil analisis. Kriteria inklusi dalam penelitian ini adalah es teh yang menggunakan es kristal dan memiliki jumlah pembeli minimal 10 orang per hari, sedangkan kriteria eksklusi adalah es teh yang menggunakan es balok, mengingat perbedaan potensi kontaminasi mikrobiologis antara kedua jenis es tersebut. Sampel diambil dengan cara membeli es teh langsung ke penjual dan segera dibawa ke Laboratorium Fakultas Farmasi UMS untuk dilakukan pengujian.

Deteksi Bakteri *Coliform*

Uji penduga (*presumptive test*). Larutan sampel sebanyak 1 mL secara bertingkat dilarutkan menggunakan 9 mL KH_2PO_4 untuk mendapatkan pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya, pengenceran 10^{-2} dibuat dengan memindahkan 1 mL dari pengenceran 10^{-1} ke dalam 9 mL *Pepton Dilution Fluid* (PDF). Kemudian, 1 mL dari setiap tingkat pengenceran dipindahkan ke tiga tabung reaksi dengan tabung Durham dan media *Lactose Broth* (LB). Selanjutnya, inkubasi tabung pada suhu $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ selama rentang waktu 24 ± 2 jam. Munculnya kekeruhan dan gas pada tabung Durham menunjukkan hasil positif. Apabila reaksi tersebut belum tampak, tabung diinkubasi kembali selama 24 jam agar pertumbuhan bakteri dapat teramati dengan jelas dan dilakukan pengamatan kembali setelah 48 ± 3 jam. Tabung dengan hasil positif dilanjutkan pengujian ke tahap uji penegasan (*confirmed test*) [10]. Pengujian dilakukan secara duplo untuk memastikan keakuratan dan konsistensi hasil.

Uji penguat (*confirmed test*). Sampel positif hasil uji pendugaan kemudian diinokulasi pada media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) dan tabung Durham menggunakan ose bulat yang disterilkan. Tabung BGLB kemudian inkubasi pada suhu $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ selama 48 ± 3 jam. Hasil dianggap positif jika timbul kekeruhan dan gas pada tabung Durham dan jumlah bakteri *Coliform* ditentukan melalui metode *Most Probable Number* (MPN) dengan menghitung tabung BGLB yang memperlihatkan reaksi positif [10]. Pengujian sampel dilakukan secara duplo untuk memastikan keakuratan dan konsistensi hasil.

Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Identifikasi *Escherichia coli* dilakukan secara *presumptif* berdasarkan ciri koloni yang tumbuh pada media EMBA, reaksi fermentasi pada media TSIA, dan hasil pewarnaan Gram. Metode ini tidak secara spesifik mengonfirmasi keberadaan *Escherichia coli*, tetapi hanya identifikasi *presumptif* untuk genus *Escherichia*. Tabung BGLB yang dinyatakan positif ditanam pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dengan menggunakan ose steril. Media EMBA kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu $35^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. Keberadaan

Escherichia coli ditandai dengan pembentukan koloni bakteri mengkilap berwarna hijau metalik [10]. Uji biokimia dilakukan dengan menginokulasikan sampel positif bakteri *Coliform* pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Media TSIA diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam (Wahyuningsih, 2019). Sampel positif ditandai dengan perubahan media TSIA menjadi kuning pada bagian miring maupun dasar media yang menunjukkan terjadinya fermentasi asam [11].

Uji Morfologi

Pemeriksaan morfologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop melalui teknik pewarnaan Gram pada setiap koloni *Escherichia coli* yang teridentifikasi. Koloni yang teridentifikasi sebagai *Escherichia coli* tampak sebagai Gram-Negatif dan berbentuk batang. Cat gram A (kristal violet), gram B (iodine lugol), gram C (decolorizer), dan gram D (safranin) diteteskan secara berurutan pada preparat bakteri *Escherichia coli* yang sudah dilakukan proses fiksasi. Cat gram A, B, dan D dilakukan proses pewarnaan dilakukan selama 1-3 menit, sedangkan gram C diteteskan selama 5-10 detik. Pengamatan preparat dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100× untuk menentukan morfologi dan hasil pewarnaan Gram pada bakteri [12].

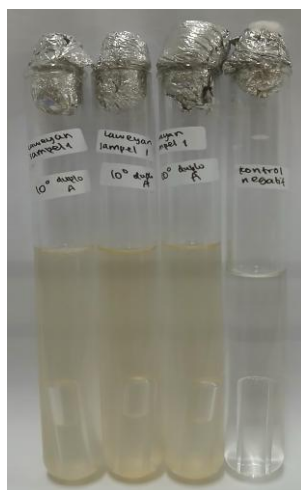
Analisis Data

Proses analisis data pada penelitian ini dilakukan secara semi-kuantitatif dengan menghitung perkiraan jumlah bakteri *Coliform* pada sampel berdasarkan hasil interpretasi tabel *Most Probable Number* (MPN) dari hasil tiga seri pengenceran sampel pada media BGLB. Sampel dinyatakan positif mengandung bakteri *Coliform* jika pada media BGLB tampak adanya kekeruhan terbentuk gelembung udara pada tabung Durham. Analisis untuk deteksi *Escherichia coli* dilakukan dengan mengamati warna koloni yang terbentuk pada media EMBA serta uji morfologi. Indikasi positif *Coliform* ditunjukkan oleh terbentuknya koloni tunggal berwarna hijau metalik pada media EMBA dan Gram-Negatif berbentuk batang pada uji morfologi dengan pewarnaan Gram. Data nilai MPN dianalisis secara deskriptif dengan menghitung nilai rata-rata dan simpangan baku dari nilai MPN sampel. Uji statistik non-parametrik Mann-Whitney U Test digunakan untuk menilai apakah terdapat perbedaan tingkat kontaminasi bakteri *Coliform* antara sampel yang positif dan negatif *Escherichia coli*.

Hasil dan Pembahasan

Deteksi Bakteri *Coliform*

Uji deteksi bakteri *Coliform* pada sampel es teh dilakukan dengan dua tahap pengujian. Tahap pendugaan dilakukan menggunakan media *Lactose Broth* (LB), sedangkan tahap penguat menggunakan media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) dengan menggunakan tiga seri pengenceran. Sampel dinyatakan positif apabila gelembung gas muncul pada tabung Durham. Pembentukan gelembung ini menunjukkan bahwa fermentasi laktosa sedang terjadi pada media LB oleh bakteri *Coliform* [13].



Gambar 1. Hasil Uji Penduga pada media *Lactose Broth* menunjukkan tabung positif (adanya kekeruhan dan gelembung gas) dan negatif.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Jumlah bakteri *Coliform* pada Uji Penduga

	Sampel	Duplo A	Duplo B	Keterangan
Sampel 1	Pengambilan 1	3-3-0	3-2-1	Positif
	Pengambilan 2	3-0-0	3-0-0	
Sampel 2	Pengambilan 1	3-3-0	3-3-0	Positif
	Pengambilan 2	3-3-0	3-3-0	
Sampel 3	Pengambilan 1	3-3-3	3-3-3	Positif
	Pengambilan 2	3-3-3	3-3-3	
Sampel 4	Pengambilan 1	3-3-3	3-3-3	Positif
	Pengambilan 2	3-3-1	3-3-0	
Sampel 5	Pengambilan 1	3-2-0	3-0-0	Positif
	Pengambilan 2	3-2-1	3-3-1	
Sampel 6	Pengambilan 1	3-3-3	3-3-3	Positif
	Pengambilan 2	3-3-3	3-3-3	
Sampel 7	Pengambilan 1	3-3-3	3-3-1	Positif
	Pengambilan 2	3-3-2	3-3-1	
Sampel 8	Pengambilan 1	3-3-3	3-3-3	Positif
	Pengambilan 2	3-2-0	3-1-0	
Sampel 9	Pengambilan 1	3-3-1	3-3-0	Positif
	Pengambilan 2	3-3-1	3-3-1	
Sampel 10	Pengambilan 1	3-3-3	3-3-3	Positif
	Pengambilan 2	3-3-3	3-3-3	

¹ Notasi tabung (contoh 3-3-0) menunjukkan tiga tabung positif pada pengenceran 10^0 , tiga pada pengenceran 10^{-1} , dan tidak ada tabung positif pada pengenceran 10^{-2} .

Tabel 2. Hasil Identifikasi Jumlah bakteri *Coliform* pada Uji Penguat

	Sampel	Duplo A	Duplo B	MPN		Rata-Rata MPN \pm SD	Kesimpulan
				Duplo A	Duplo B		
Sampel 1	Pengambilan 1	3-1-0	3-1-1	43	75	34.1 \pm 15.7	Positif
	Pengambilan 2	2-0-0	2-0-0	9.2	9.2		
Sampel 2	Pengambilan 1	3-3-0	1-3-0	240	16	239 \pm 90.6	Positif
	Pengambilan 2	3-3-0	3-3-1	240	460		
Sampel 3	Pengambilan 1	2-1-0	0-1-0	15	3	15.8 \pm 7.7	Positif
	Pengambilan 2	1-1-0	3-0-1	7.4	38		
Sampel 4	Pengambilan 1	1-2-0	2-3-0	11	29	17.5 \pm 3.94	Positif
	Pengambilan 2	2-1-0	2-1-0	15	15		
Sampel 5	Pengambilan 1	3-0-0	3-0-0	23	23	33 \pm 5.7	Positif
	Pengambilan 2	3-1-0	3-1-0	43	43		
Sampel 6	Pengambilan 1	3-3-0	3-3-0	240	240	240 \pm 0	Positif
	Pengambilan 2	3-3-0	3-3-0	240	240		
Sampel 7	Pengambilan 1	2-3-0	3-2-2	29	210	65.2 \pm 48.4	Positif
	Pengambilan 2	1-2-0	1-2-0	11	11		
Sampel 8	Pengambilan 1	2-3-2	2-1-2	>36	27	21.3 \pm 6.3	Positif
	Pengambilan 2	2-1-0	1-1-0	15	7.4		
Sampel 9	Pengambilan 1	1-2-1	2-1-0	15	15	15.2 \pm 1.8	Positif
	Pengambilan 2	2-1-1	1-2-0	20	11		
Sampel 10	Pengambilan 1	2-2-1	2-2-2	28	35	26.5 \pm 4.1	Positif
	Pengambilan 2	1-2-2	2-2-1	>15	28		

² Notasi tabung (contoh 3-3-0) menunjukkan tiga tabung positif pada pengenceran 10^0 , tiga pada pengenceran 10^{-1} , dan tidak ada tabung positif pada pengenceran 10^{-2} .

Berdasarkan pengujian, semua sampel yang diuji menunjukkan indikasi positif keberadaan bakteri *Coliform*, sehingga pengujian diteruskan pada tahap konfirmasi melalui uji penguat. Uji penguat dilakukan dengan menginokulasikan sampel positif pada media BGLB. Uji ini bertujuan untuk menekan pertumbuhan bakteri Gram-positif sekaligus merangsang pertumbuhan bakteri *Coliform* [14]. Terbentuknya kekeruhan dan gas pada tabung Durham menunjukkan hasil positif. Kekeruhan tersebut mengindikasikan adanya pertumbuhan aktivitas mikroorganisme [6].



Gambar 2. Hasil Uji Penguat Bakteri *Coliform* pada media *Brilliant Green Lactose Broth* menunjukkan tabung positif (adanya kekeruhan dan gelembung gas) dan negatif.

Berdasarkan hasil uji penguat pada Tabel 2, didapatkan nilai MPN dari 10 sampel yang diuji tidak memenuhi persyaratan menurut [15] Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 tentang Kesehatan Lingkungan yang menyebutkan bahwa kadar total *Coliform* maksimum yang diperbolehkan adalah 0 MPN/100 mL. Nilai MPN yang tinggi menunjukkan tingginya jumlah bakteri yang terdapat dalam sampel. Beberapa faktor yang mempengaruhi jumlah bakteri dan berpotensi meningkatkan risiko kontaminasi bakteri antara lain, wadah penyimpanan sampel, kualitas air, higienitas lingkungan, dan lokasi penjualan yang berada di pinggir jalan [16]. Penyebab perbedaan jumlah bakteri *Coliform* di setiap sampel adalah variasi lokasi geografis mata air yang berpotensi menimbulkan perbedaan sumber kontaminasi. Selain itu, perbedaan kualitas sumber air dan perbedaan pengelolaan atau penanganan juga mempengaruhi hasil pengujian. Hasil ini sejalan dengan penelitian [9] pada analisis untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada minuman es teh yang dijual di lingkungan sekitar STIKES Pangkalan Bun yang menunjukkan bahwa 10 dari 10 sampel es teh tersebut tercemar bakteri *Coliform* dengan nilai MPN 25-1800 MPN/100 mL.

Media BGLB tersusun atas beberapa komponen yang masing-masing memiliki fungsi spesifik dalam mendukung pertumbuhan dan selektivitas bakteri. Beberapa komponen tersebut yaitu pepton, oxgall, laktosa, dan brilliant green. Pepton berfungsi sebagai sumber nutrisi esensial untuk meningkatkan proses metabolisme bakteri, sementara laktosa bertindak sebagai sumber karbon yang mendukung fermentasi, sedangkan keberadaan brilliant green dan oxgall membantu menghambat mikroba Gram-positif. Karenanya, pertumbuhan bakteri Gram-negatif dapat lebih optimal [14].

Nilai MPN yang sangat tinggi pada sampel 2 dan 6 (240 MPN/100 mL) dapat disebabkan oleh berbagai faktor sanitasi. Berdasarkan pengamatan, kedua sampel tersebut dijual di pinggir jalan dengan lokasi yang lebih terpapar debu, kotoran, dan serangga seperti lalat jika dibandingkan dengan sampel lain. Selain itu, peralatan yang digunakan oleh penjual nampak tidak higienis. Faktor-faktor tersebut dapat meningkatkan jumlah bakteri *Coliform* secara signifikan.

Identifikasi Bakteri *Escherichia coli*

Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan menginokulasi sampel positif dari uji penguat pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Sampel dinyatakan positif *Escherichia coli* apabila koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik dengan pantulan seperti logam merupakan indikator keberadaan bakteri genus *Escherichia*, khususnya *Escherichia coli*. Pertumbuhan bakteri *Coliform* lain ditunjukkan dengan adanya koloni warna merah muda keunguan pada media EMBA [16]. Berdasarkan hasil identifikasi pada Tabel 3,

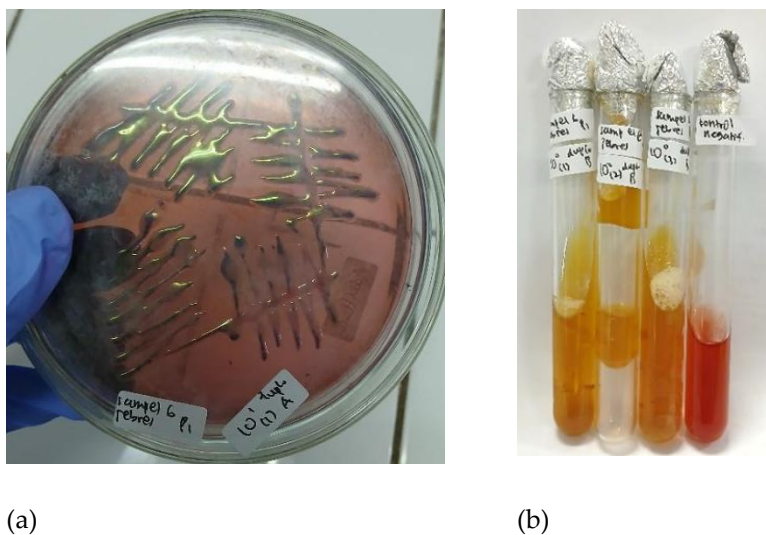
didapatkan sampel positif bakteri *Escherichia coli* sebanyak 6 dari 10 sampel. Hal ini tidak memenuhi persyaratan menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 tentang Kesehatan Lingkungan yang menyebutkan bahwa kadar total *Escherichia* maksimum yang diperbolehkan adalah 0 MPN/100 mL. Hasil ini sejalan dengan penelitian Wahyuningsih tahun 2019 [9] pada analisis untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Escherichia coli* pada minuman es teh yang dijual di lingkungan sekitar STIKES Pangkalan Bun yang menunjukkan bahwa 10 dari 10 sampel tercemar bakteri *Escherichia coli*. Namun, jika dibandingkan dengan penelitian tersebut, jumlah sampel positif *Escherichia coli* pada penelitian ini lebih rendah (6 sampel) dibandingkan 10 sampel pada penelitian sebelumnya. Perbedaan ini dapat disebabkan karena adanya perbedaan karakteristik sampel yang diuji. Pada penelitian yang dilakukan oleh Wahyuningsih, sebagian besar sampel diperoleh dari penjual minuman yang berada pada area dengan tingkat kebersihan rendah, sedangkan dalam penelitian ini sebagian besar sampel berasal dari gerai yang memiliki penyajian lebih tertutup sehingga risiko kontaminasi lebih rendah. Selain itu, variabilitas sumber bahan baku seperti air dan es batu serta faktor lingkungan saat pengambilan sampel juga dapat menyebabkan perbedaan tingkat kontaminasi *Escherichia coli* pada setiap penelitian.

Tabel 3. Hasil Identifikasi Jumlah Bakteri *Escherichia coli*

	Sampel	EMBA	TSIA	Pewarnaan Gram	Keterangan
Sampel 1	Pengambilan 1	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	Positif
	Pengambilan 2	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	
Sampel 2	Pengambilan 1	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	Positif
	Pengambilan 2	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	
Sampel 3	Pengambilan 1	Koloni ungu	A/G	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	Negatif
	Pengambilan 2	Koloni ungu	A/G	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	
Sampel 4	Pengambilan 1	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	Positif
	Pengambilan 2	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	
Sampel 5	Pengambilan 1	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	Positif
	Pengambilan 2	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	
Sampel 6	Pengambilan 1	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	Positif
	Pengambilan 2	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	
Sampel 7	Pengambilan 1	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	Negatif
	Pengambilan 2	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	
Sampel 8	Pengambilan 1	Koloni hijau metalik	A/G	Batang Gram negatif	Positif
	Pengambilan 2	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	
Sampel 9	Pengambilan 1	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	Negatif
	Pengambilan 2	Koloni ungu	A/G	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	
Sampel 10	Pengambilan 1	Koloni ungu	A/-	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	Negatif
	Pengambilan 2	Koloni ungu	A/G	Tidak dilakukan pewarnaan Gram	

³ A/G menunjukkan sampel memfermentasi glukosa (berwarna kuning) dengan produksi gas; A/- menunjukkan sampel memfermentasi gas (berwarna kuning) tanpa produksi gas pada media TSIA.

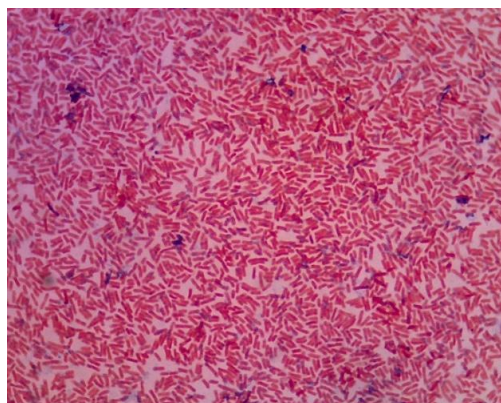
Uji biokimia dilakukan pada sampel dengan menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA). Sampel yang dinyatakan positif bakteri *Escherichia coli* pada media TSIA ditandai dengan keberadaan gas dan perubahan warna media dari merah menjadi kuning karena adanya asam yang menunjukkan bakteri *Escherichia coli* mampu memfermentasi semua jenis karbohidrat seperti glukosa dan sukrosa atau laktosa [17]. Sampel yang menunjukkan hasil positif pada media TSIA mendukung hasil pada media EMBA yang menunjukkan koloni hijau metalik serta hasil pewarnaan Gram yang memperlihatkan bakteri berbentuk batang Gram-negatif.



Gambar 3. Hasil Uji Identifikasi *Escherichia coli* pada Media (a) EMBA menunjukkan positif *Escherichia coli* (warna hijau metalik) (b) TSIA menunjukkan positif *Escherichia coli* (warna kuning) dan negatif (merah).

Uji Morfologi

Uji morfologi dilakukan untuk memperkuat hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* yang telah diperoleh sebelumnya. Sampel yang menunjukkan hasil negatif pada media EMBA (koloni berwarna ungu) tidak dilakukan uji pewarnaan Gram. Hasil uji morfologi melalui pewarnaan Gram mendukung hasil dari uji biokimia, dimana dinding sel bakteri Gram-negatif memiliki struktur yang lebih rentan terhadap kerusakan mekanis karena tidak memiliki asam teikoat dan hanya memiliki sedikit peptidoglikan. Oleh karena itu, saat dilakukan pewarnaan Gram, penambahan alkohol akan menyebabkan dinding sel kehilangan warna cat kristal violet, sehingga pemberian cat safranin akan memberi warna merah pada bakteri [18]. Hal ini mendukung hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* dengan media EMBA dan uji biokimia dengan media TSIA.



Gambar 4. Hasil Uji Pewarnaan Gram *Escherichia coli* menunjukkan bakteri berupa Gram negatif (berwarna merah dan berbentuk batang).

Berdasarkan uji Mann-Whitney diperoleh nilai $p = 0.004$ ($p < 0.05$) yang menunjukkan adanya perbedaan nilai MPN yang signifikan antara sampel yang positif *Escherichia coli* dan sampel yang negatif. Nilai

mean rank sampel positif *Escherichia coli* (28.18) lebih tinggi dibandingkan sampel negatif (16.79) yang mengindikasikan bahwa sampel yang mengandung *Escherichia coli* memiliki tingkat cemaran *Coliform* yang lebih tinggi. Persentase sampel positif bakteri *Escherichia coli* yang tinggi yaitu sebanyak 6 dari 10 sampel juga menunjukkan bahwa terdapat risiko kontaminasi fekal pada sampel yang diuji. Kontaminasi ini mungkin disebabkan oleh tingkat kebersihan air yang digunakan, proses penyajian, atau peralatan yang tidak disterilkan.

Kehadiran bakteri *Escherichia coli* dalam air minum menunjukkan hubungan yang signifikan dengan kemungkinan adanya mikroorganisme patogen dalam bahan pangan yang disebabkan akibat adanya kontaminasi fekal. Potensi gastroenteritis berupa penyakit pada saluran pencernaan dapat timbul akibat infeksi yang disebabkan oleh beragam jenis virus dapat terjadi apabila terdapat sekitar 500 sel bakteri *Escherichia coli* dalam 100 mL air minum. Kondisi tersebut umumnya dikenal sebagai flu perut, flu lambung, atau infeksi virus perut. Gejala yang muncul meliputi rasa mual, muntah, kram perut, diare, serta demam akibat respons tubuh terhadap infeksi pada saluran pencernaan. Dalam kondisi tertentu, bakteri *Escherichia coli* dapat menembus mekanisme pertahanan tubuh dan menyebabkan diare serta penyakit lain yang berkaitan dengan sistem pencernaan [7]. Dengan demikian, hasil penelitian ini menunjukkan adanya kontaminasi bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada sampel yang diuji, yang menandakan adanya potensi risiko terhadap kesehatan masyarakat akibat kualitas sanitasi yang kurang baik.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian dapat disimpulkan bahwa terjadi kontaminasi bakteri *Coliform* pada 10 sampel dan bakteri *Escherichia coli* pada 6 dari 10 sampel es teh yang di Kota X dengan nilai MPN berkisar antara 3-460 MPN/100 mL. Hasil ini menunjukkan bahwa seluruh sampel tidak memenuhi persyaratan kualitas mikrobiologis berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 yang menetapkan bahwa nilai ambang batas *Coliform* total dan *Escherichia coli* pada air minum ditetapkan sebesar 0 MPN/100 mL. Berdasarkan uji Mann-Whitney diperoleh nilai $p = 0.004$ ($p < 0.05$) yang menunjukkan adanya perbedaan nilai MPN yang signifikan antara sampel yang positif *Escherichia coli* dan sampel yang negatif.

Conflict of Interest

Penelitian ini dilakukan tanpa adanya konflik kepentingan atau keterkaitan dengan pihak manapun yang dapat memengaruhi objektivitas penelitian.

Acknowledgment

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta atas dukungan fasilitas penelitian dan kepada semua pihak yang telah membantu hingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

Referensi

- [1] Jufri ES, Rahman I. Analisis Cemaran Bakteri *Coliform* Pada Minuman Jajanan Dengan Metode MPN (Most Probable Number). *J Syifa Sci Clin Res* 2022;4:162–72. <https://doi.org/10.37311/jsscr.v4i1.13595>.
- [2] Hisyam CJ. Maraknya Usaha Franchise dalam Perspektif Field dan Habitus (Studi Kasus Tren Perdagangan Es Teh Solo). *Anggar J Publ Ekon Dan Akunt* 2024;2:376–87.
- [3] Cahyani. N, Tosepu. R ZA. Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli*, Gambaran Higiene Panjamah dan Sanitasi Tempat Pengolahan Minuman Es Teh Warung Makan di Kecamatan Kadia Kota Kendari. *Prev J* 2024;8:293–9.
- [4] Nawawee NSM, Bakar NFA, Zulfakar SS. Microbiological safety of street-vended beverages in Chow Kit, Kuala Lumpur. *Int J Environ Res Public Health* 2019;16. <https://doi.org/10.3390/ijerph16224463>.
- [5] Puspitarini PMA, Pratama IS, Suryadi BF. Anti-Diarrheal Activity of Aqueous Extract of Nagasari Flowers (*Mesua ferrea* L.) In BALB/c Mice Induced by *Escherichia coli*. *J Pharm Sci Community* 2020;16:50–5. <https://doi.org/10.24071/jpsc.001814>.

- [6] Alifia ES, Aji OR. Analisis Keberadaan Coliform dan Escherichia coli pada Es Batu dari Jajanan Minuman di Pasar Tengah Bandar Lampung. Quagga J Pendidik Dan Biol 2020;13:74. <https://doi.org/10.25134/quagga.v13i1.3698>.
- [7] Hubaiba U, Ahmad Saktiansyah LO. Analisis Kandungan Escherichia coli pada Minuman Thai Tea di Kecamatan Puuwatu Kota Kendari Provinsi Sulawesi Tenggara. Nurs Care Heal Technol J 2021;1:110–6. <https://doi.org/10.56742/nchat.v1i2.9>.
- [8] Agustina N, Hayati R, Irianty H. Preventif : Jurnal Kesehatan Masyarakat the Quality of Bakteriologis Study and Use of Water or Dug Wells With an Occurrence Water Borne Diseases in the Village West Pasayangan. Univ Islam Kalimantan MAAB Banjarmasin 2018;9:15–20.
- [9] Wahyuningsih R. Identifikasi Adanya Bakteri Escherichia coli pada Minuman Es Teh yang Dijual Disekitas Stikes BCM Pangkalan Bun Wilayah Kota Waringin Barat. vol. 3. 2019.
- [10] Badan Standardisasi Nasional. Cara uji mikrobiologi - Bagian 1: Penentuan coliform dan Escherichia coli. Badan Standarisasi Nas 2015:1–19.
- [11] Simamora P. Identification of Escherichia Coli Bacteria in Well Water Treatment at STIKes Namira Madina and Bottle Drinking Water 2024;4:322–31. <https://doi.org/10.55299/ijphe.v4i1.845>.
- [12] Arum R, Kasasiah A, Ratnasari D. Cemarkan Coliform Dan Identifikasi Bakteri Escherichia coli Pada Jamu Gendong Di Kecamatan Karawang Timur. Parapemikir J Ilm Farm 2022;11:224. <https://doi.org/10.30591/pjif.v11i3.3724>.
- [13] Hadiansyah NK, Junitasari A, Gustiana E. Analisis Bakteri Coliform dalam Sampel Air Minum Pamsimas di Kabupaten Kuningan Analysis of Coliform Bacteria in Pamsimas Drinking Water Samples in Kuningan Regency. J Kartika Kim 2021;4:89–95.
- [14] Kurahman T, Rohama R, Saputri R. Analisis Cemarkan Bakteri Coliform Dan Identifikasi Bakteri Escherichia Coli Pada Air Galon Di Desa Sungai Danau. J Pharm Care Sci 2022;3:76–86. <https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i1.224>.
- [15] Kemenkes. Berita Negara Republik Indonesia. 2023.
- [16] Sari IP, Rahmawati R, Kurniatuhadi R. Angka Paling Mungkin Dan Deteksi Coliform Pada Sampel Lalapan Daun Kemangi (Ocimum bacilicum) di Kota Pontianak. J Protobiont 2019;8:34–40. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v8i3.36822>.
- [17] Rachmawati R, Muzajjanah M, Rustam Y. Deteksi Bakteri Escherichia coli Dalam Air Minum Isi Ulang Yang Disterilisasi Ultraviolet Di Wilayah Kecamatan Jagakarsa. Bioma 2017;11:73. <https://doi.org/10.21009/bioma1101.8>.
- [18] Inur Tivani, Wilda Amananti AS. Uji Identifikasi Bakteri Escherichia coli pada Jamu Gendong Kunyit Asem di Kabupaten Tegal. Politek Harapan Bersama Tegal 2019;8:31–5.