

## PENGENDALIAN MUTU MIKROBIOLOGI ES BATU BERDASARKAN NILAI MOST PROBABLE NUMBER

Lusi Marlina<sup>1</sup>, Irma Nuril Maryam<sup>2</sup>, Anis Sarah<sup>3</sup>

Teknik Kimia, Politeknik TEDC Bandung<sup>1),2),3)</sup>

Email: lusi@poltektedc.ac.id<sup>1</sup>, irmanuril@poltektedc.ac.id<sup>2</sup>, aniss\_micnic@ymail.com<sup>3</sup>

### Abstrak

Dinamika tren kuliner yang melahirkan hidangan dan minuman dengan es batu sebagai elemen utama atau penambah sensasi mendorong peningkatan konsumsi es batu terutama di kota Bandung. Dalam prakteknya, pembuatan es batu sering tidak memperhatikan faktor higienitas sehingga beresiko terkontaminasi bakteri seperti Koliform dan *Escherichia coli*. Oleh karena itu studi deskriptif laboratorik ini bertujuan mendeteksi kontaminasi bakteri koliform dan *Escherichia coli* pada lima sampel es batu konsumsi di lingkungan Politeknik TEDC Bandung. Dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) melalui serangkaian uji (presumtif, penegasan, dan pelengkap), ditemukan bahwa seluruh sampel positif mengandung koliform, dengan konsentrasi tertinggi mencapai 240 MPN/100 mL. Selain itu, identifikasi melalui uji IMViC mengonfirmasi keberadaan *E. coli* pada satu sampel. Karena hasilnya tidak memenuhi standar Permenkes No. 492 Tahun 2010, diperlukan evaluasi ketat terhadap higienitas dan sanitasi pada proses produksi es batu tersebut.

**Kata kunci:** *Escherichia Coli*, Es Batu, Koliform, MPN, Kualitas Air

### Abstract

*The dynamic culinary trends that produce food and beverages utilizing ice cubes as a primary element or sensation enhancer have driven an increase in ice cube consumption, particularly in Bandung. In practice, ice cube production often disregards hygienic factors, posing a risk of contamination by bacteria such as Coliform and Escherichia coli. Therefore, this descriptive laboratory study aims to detect coliform and Escherichia coli bacterial contamination in five samples of consumable ice cubes within the TEDC Polytechnic Bandung environment. Utilizing the Most Probable Number (MPN) method through a series of presumptive, confirmed, and completed tests, it was found that all samples tested positive for coliform, with the highest concentration reaching 240 MPN/100 mL. Furthermore, identification via IMViC tests confirmed the presence of E. coli in one sample. Since the results do not comply with the quality standards set by the Regulation of the Minister of Health (Permenkes) No. 492 of 2010, a rigorous evaluation of hygienity and sanitation in the ice cube production process is required.*

**Keywords:** *Escherichia Coli, Ice Cubes, Coliform, MPN, Water Quality*

## I. PENDAHULUAN

Air merupakan komponen utama yang sangat esensial dalam kehidupan manusia, karena mendukung berbagai aktivitas domestik maupun industri, mulai dari konsumsi rumah tangga sehari-hari, pengolahan pangan, irigasi pertanian, hingga proses produksi skala industri yang kompleks. Untuk menjamin keamanan dan kesehatan masyarakat, kualitas air yang digunakan harus memenuhi persyaratan ketat secara fisik (seperti kejernihan dan suhu), kimia (seperti kadar logam berat dan pH), serta mikrobiologi (seperti bebas patogen). Hal ini diatur secara spesifik dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010, yang menetapkan bahwa air minum harus bebas sepenuhnya dari total koliform dan *Escherichia coli* dalam volume sampel 100 mL, sebagai indikator utama kebersihan air. Ketentuan ini selaras dengan pedoman internasional dari *World Health Organization* (WHO) mengenai kualitas air minum, yang menekankan bahwa keberadaan bakteri koliform merupakan tanda pencemaran mikrobiologis akibat sanitasi lingkungan yang rendah dan potensi risiko penyakit menular seperti diare atau kolera (WHO, 2022). Dalam konteks industri pangan, air memainkan peran krusial sebagai bahan baku utama dalam pembuatan

es batu, yang banyak digunakan masyarakat sebagai pendukung pendingin pada minuman segar seperti jus, teh, atau minuman kemasan, sehingga menuntut pemenuhan standar higienis yang lebih tinggi untuk mencegah kontaminasi silang. Meningkatnya jumlah kedai kopi, minuman kekinian, dan berbagai bisnis kuliner meningkatkan permintaan akan es batu terutama di Bandung yang terkenal sebagai kota kuliner.

Es batu adalah produk pangan berbasis air yang rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme jika proses produksi, penyimpanan, dan distribusinya tidak mematuhi prinsip hygiene serta sanitasi yang ketat. Sumber kontaminasi mikrobiologi pada es batu bisa berasal dari air baku yang tercemar, peralatan produksi yang tidak steril, atau lingkungan pengolahan yang kurang bersih. Studi oleh Triggiano et al. (2024) mengungkap bahwa es batu di berbagai negara masih sering terdeteksi mengandung bakteri indikator pencemaran, seperti koliform dan *Escherichia coli* (Thongkaow, P. et al., 2021; Ferreira, A. C. A. de et al., 2022; Wiguna, I. G. W. W. et al., 2022; Rizka, D. B et al., 2024; Yitao Lu et al., 2025). Demikian pula, penelitian Liao et al. (2023) menyoroti risiko tinggi kontaminasi silang pada es yang bersentuhan dengan pangan (food-contact ice) selama tahap distribusi dan penyimpanan. Situasi ini

menggarisbawahi bahwa es batu tidak hanya berperan sebagai pendingin minuman, melainkan juga berpotensi menjadi vektor penyebaran mikroorganisme patogen jika kualitas mikrobiologinya tidak dikelola dengan baik.

Keberadaan bakteri koliform dalam produk pangan mengindikasikan pencemaran akibat sanitasi yang tidak memadai. Semakin tinggi populasi bakteri koliform, semakin tinggi pula risiko adanya patogen lain seperti *Salmonella*, *Shigella*, dan *Escherichia coli*. *E. coli* secara khusus menjadi indikator fekal utama, karena biasanya berasal dari saluran pencernaan manusia atau hewan. Penelitian Dwitami et al. (2024) menemukan bahwa sampel es batu dari pedagang minuman kaki lima di Jakarta Timur memiliki nilai MPN koliform melebihi batas standar kesehatan. Temuan serupa dilaporkan Sanjaya et al. (2024), yang mendeteksi *Escherichia coli* pada es batu pedagang minuman di Kabupaten Bangli. Kontaminasi ini dapat memicu gangguan kesehatan seperti diare, gastroenteritis, serta infeksi saluran pencernaan lainnya. Karenanya, pengawasan ketat terhadap kualitas mikrobiologi es batu merupakan elemen krusial dalam pengendalian mutu dan keamanan pangan.

Metode Most Probable Number (MPN) adalah teknik mikrobiologi standar yang banyak dipakai untuk mendeteksi dan mengestimasi populasi bakteri koliform dalam sampel cair. Metode ini efektif untuk menilai kualitas air serta produk pangan berbasis air berkat sensitivitasnya yang tinggi dalam mengidentifikasi indikator pencemaran (Gao, Z. et al., 2024; Noor Andryan Ilsan, 2024; Krishna Kumar Patel et al., 2025). Menurut Kumar et al. (2022), MPN tetap menjadi prosedur rujukan utama dalam pengujian mikrobiologi pangan dan minuman. Berdasarkan konteks tersebut, penelitian ini bertujuan menganalisis keberadaan bakteri *Escherichia coli* dan koliform pada es batu produksi masyarakat di sekitar Kampus Politeknik TEDC Bandung, dengan menerapkan metode MPN guna mengevaluasi tingkat sanitasi dan keamanan pangan.

Meskipun penelitian mengenai cemaran mikrobiologi pada es batu telah banyak dilakukan di berbagai wilayah—seperti oleh Dwitami et al. (2024) di Jakarta Timur dan Sanjaya et al. (2024) di Kabupaten Bangli—sebagian besar studi terdahulu hanya berfokus pada pemetaan kualitas produk di pusat perbelanjaan formal atau pedagang kaki lima perkotaan secara makro. Kekurangan dari penelitian-penelitian sebelumnya adalah belum adanya evaluasi spesifik mengenai dinamika kontaminasi es batu di lingkungan institusi pendidikan vokasi, yang memiliki pola konsumsi unik dan perputaran distribusi pangan yang sangat cepat. Selain itu, hal yang sejauh ini belum pernah diteliti adalah bagaimana pengaruh tata letak geografis dan keterbatasan fasilitas sanitasi mandiri pada penyedia jasa makanan di area semi-tertutup kampus terhadap risiko bertahannya bakteri psikrotrofik pada produk es batu lokal.

Penelitian ini krusial dilakukan di Politeknik TEDC Bandung karena alasan utama. Pertama, kawasan kampus di sekitar kedai minuman kekinian dan kantin informal yang menjadi pusat konsumsi ratusan mahasiswa, dosen, dan staf. Kedua, topografi dan pasokan air bersih yang tidak stabil membuat produsen lokal mengandalkan air tanah atau air isi ulang tanpa sterilisasi termal memadai. Ketiga, sebagai institusi pendidikan teknik dan kesehatan terapan, TEDC butuh data autentik dari wilayahnya sendiri untuk menyusun *blueprint* pengawasan pangan mandiri.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengisi celah riset tersebut dengan menganalisis secara komprehensif keberadaan bakteri *Escherichia coli* dan koliform pada es batu konsumsi di sekitar Kampus Politeknik TEDC Bandung menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN). Hasil riset ini diharapkan tidak hanya memberikan gambaran objektif mengenai tingkat keamanan pangan lokal, tetapi juga menjadi landasan ilmiah bagi manajemen kampus dan dinas kesehatan dalam merancang sistem mitigasi kontaminasi mikrobiologi yang lebih tepat sasaran.

## II. LANDASAN TEORI

### A. Air dan Kualitas Air Minum

Air merupakan sumber daya alam yang memiliki peranan sangat penting bagi kehidupan manusia, baik untuk kebutuhan konsumsi, sanitasi, industri, maupun pengolahan pangan. Dalam bidang pangan dan kesehatan, kualitas air menjadi faktor utama yang menentukan keamanan suatu produk yang dikonsumsi masyarakat. Air yang tercemar mikroorganisme patogen dapat menjadi media penyebaran berbagai penyakit berbasis air (*waterborne disease*) seperti diare, tifus, disentri, dan kolera (Manetu, W., & Karanja, A., 2021).

Kualitas air minum ditentukan berdasarkan parameter fisik, kimia, dan mikrobiologi. Persyaratan fisik meliputi air yang tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa, serta memiliki tingkat kekeruhan yang rendah. Persyaratan kimia meliputi kandungan zat-zat tertentu seperti besi, mangan, nitrat, nitrit, dan logam berat yang tidak melebihi ambang batas yang ditetapkan. Sementara itu, persyaratan mikrobiologi merupakan parameter yang sangat penting karena berkaitan langsung dengan keberadaan mikroorganisme patogen di dalam air.

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 492/Menkes/Per/IV/2010, air minum harus bebas dari total koliform dan *Escherichia coli* dalam 100 mL sampel. Standar tersebut juga mengacu pada pedoman WHO mengenai kualitas air minum yang menyatakan bahwa keberadaan bakteri koliform merupakan indikator sanitasi yang buruk dan kemungkinan adanya pencemaran fekal (WHO, 2022).

Bakteri koliform digunakan sebagai indikator pencemaran karena kelompok bakteri ini banyak ditemukan pada saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. Apabila bakteri koliform

ditemukan dalam air, maka terdapat kemungkinan air tersebut juga mengandung mikroorganisme patogen lain yang berbahaya bagi kesehatan manusia. Kumar et al. (2022) menyatakan bahwa deteksi bakteri koliform dalam produk pangan dan minuman sangat penting untuk mengevaluasi keamanan pangan serta tingkat sanitasi proses produksi. Oleh karena itu, pengawasan kualitas mikrobiologi air sangat penting terutama pada produk pangan berbasis air seperti es batu.

#### B. Es Batu

Es batu merupakan produk hasil pembekuan air pada suhu di bawah 0°C hingga membentuk massa padat. Dalam kehidupan sehari-hari, es batu digunakan sebagai pendingin makanan dan minuman serta sebagai bahan tambahan dalam industri pangan dan minuman. Penggunaan es batu yang sangat luas menyebabkan kualitas dan keamanan produk ini perlu mendapatkan perhatian khusus.

Dalam proses produksinya, es batu dapat dibuat secara industri maupun skala rumah tangga. Proses pembuatan es batu umumnya meliputi tahap penyaringan air, pengisian cetakan, pembekuan, penyimpanan, dan distribusi. Namun pada praktiknya, masih banyak produsen es batu yang menggunakan sumber air yang tidak memenuhi standar kualitas air minum dan menerapkan sanitasi yang kurang baik selama proses produksi.

Es batu sering dianggap aman karena diproduksi pada suhu rendah. Padahal, suhu dingin tidak selalu mampu membunuh mikroorganisme patogen. Beberapa jenis bakteri seperti *Escherichia coli* dan kelompok koliform lainnya masih mampu bertahan hidup pada suhu rendah bahkan selama proses pembekuan. Penelitian Triggiano et al. (2024) menunjukkan bahwa produk es batu di berbagai negara masih banyak ditemukan mengandung bakteri indikator pencemaran seperti koliform dan *Escherichia coli*. Selain itu, Liao et al. (2023) menjelaskan bahwa es kontak pangan (*food-contact ice*) memiliki risiko tinggi mengalami kontaminasi silang selama proses distribusi dan penyimpanan.

Distribusi dan penyimpanan es batu yang dilakukan tanpa penerapan higiene yang baik dapat meningkatkan jumlah mikroorganisme pada produk. Wang et al. (2023) menyebutkan bahwa sanitasi wadah penyimpanan dan kualitas air baku menjadi faktor utama dalam pengendalian keamanan mikrobiologi es batu. Oleh karena itu, penerapan higiene sanitasi dan pengawasan kualitas mikrobiologi pada es batu sangat diperlukan untuk menjamin keamanan pangan.

#### C. *Escherichia Coli*

*Escherichia coli* atau *E. coli* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang yang termasuk ke dalam famili *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini umumnya hidup di dalam usus manusia dan hewan berdarah panas sebagai flora normal. Namun, keberadaan *E. coli* di luar saluran pencernaan,

khususnya dalam air dan produk pangan, digunakan sebagai indikator pencemaran fekal.

Secara mikrobiologi, *E. coli* memiliki kemampuan memfermentasi laktosa dengan menghasilkan gas dan asam dalam waktu 24–48 jam pada suhu inkubasi tertentu. Bakteri ini juga menunjukkan karakteristik biokimia khas pada pengujian IMViC yaitu Indol positif, Methyl Red positif, Voges-Proskauer negatif, dan Citrate negatif.

Keberadaan *E. coli* dalam air dan pangan menunjukkan adanya kontaminasi dari tinja manusia atau hewan sehingga berpotensi disertai mikroorganisme patogen lainnya. Kontaminasi *E. coli* pada produk pangan dapat menyebabkan berbagai penyakit seperti diare, muntaber, infeksi saluran pencernaan, bahkan keracunan makanan pada beberapa strain patogen tertentu seperti *E. coli* O157:H7.

Penelitian Sanjaya et al. (2024) menemukan adanya cemaran *Escherichia coli* pada es batu pedagang minuman di Kabupaten Bangli yang menunjukkan rendahnya sanitasi proses pengolahan es batu. Selain itu, Dwitami et al. (2024) melaporkan bahwa sebagian besar sampel es batu pada pedagang kaki lima memiliki nilai MPN koliform yang melebihi standar kesehatan. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa *E. coli* masih menjadi indikator penting dalam evaluasi keamanan pangan berbasis air.

Bakteri *E. coli* memiliki kemampuan bertahan hidup pada lingkungan bersuhu rendah termasuk dalam es batu. Castro-Morales et al. (2024) juga melaporkan bahwa produk es kemasan masih berpotensi mengandung bakteri indikator pencemaran dan mikroorganisme patogen selama proses distribusi. Oleh karena itu, *E. coli* digunakan sebagai parameter penting dalam analisis kualitas mikrobiologi air dan produk pangan berbasis air.

#### D. Metode *Most Probable Number* (MPN)

Metode *Most Probable Number* (MPN) merupakan metode mikrobiologi yang digunakan untuk memperkirakan jumlah bakteri dalam sampel cair berdasarkan probabilitas statistik pertumbuhan mikroorganisme. Metode ini banyak digunakan dalam analisis kualitas air, susu, minuman, dan produk pangan lainnya karena relatif sederhana dan memiliki sensitivitas yang baik untuk mendeteksi bakteri koliform.

Prinsip metode MPN adalah menginokulasikan sejumlah volume sampel ke dalam media cair tertentu pada beberapa tingkat pengenceran. Setelah proses inkubasi, jumlah tabung yang menunjukkan hasil positif dicocokkan dengan tabel MPN standar untuk memperkirakan jumlah bakteri dalam sampel.

Pengujian metode MPN terdiri dari tiga tahap utama, yaitu:

##### 1. *Presumptive Test* (Uji Pendugaan)

Tahap ini bertujuan mendeteksi keberadaan bakteri koliform secara awal menggunakan media Lactose Broth (LB). Sampel

diinokulasikan ke dalam media yang dilengkapi tabung Durham dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam. Pembentukan gas pada tabung Durham menunjukkan hasil positif adanya bakteri koliform.

2. **Confirmative Test** (Uji Penegasan)  
Tahap penegasan dilakukan menggunakan media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) untuk memastikan keberadaan bakteri koliform fekal. Sampel positif dari tahap presumptive dipindahkan ke media BGLB kemudian diinkubasi pada suhu 44°C. Pembentukan gas menunjukkan hasil positif koliform fekal.
3. **Completed Test** (Uji Pelengkap)  
Tahap *completed test* dilakukan untuk identifikasi lebih lanjut terhadap bakteri yang ditemukan. Pengujian dilakukan menggunakan media selektif dan uji biokimia seperti ENDO Agar, TSIA, dan IMViC untuk memastikan keberadaan *Escherichia coli*.

Menurut Kumar et al. (2022), metode MPN masih menjadi metode standar yang efektif dalam mendeteksi bakteri koliform pada produk pangan cair karena memiliki sensitivitas yang baik terhadap tingkat kontaminasi rendah hingga sedang. Selain itu, metode ini juga direkomendasikan dalam berbagai standar pengujian kualitas air dan pangan internasional karena mampu memberikan estimasi jumlah bakteri secara akurat dan praktis untuk analisis laboratorium mikrobiologi.

### III. METODE PENELITIAN

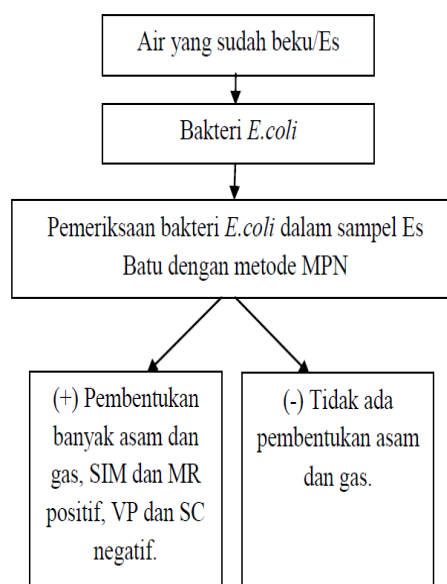
Penelitian ini dirancang sebagai penelitian eksperimental deskriptif laboratorik dengan pendekatan kuantitatif untuk mengetahui keberadaan bakteri koliform dan *Escherichia coli* pada sampel es batu yang diproduksi masyarakat di sekitar Kampus Politeknik TEDC Bandung. Analisis dilakukan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) yang terdiri dari *presumptive test*, *confirmative test*, dan *completed test*.

Lokasi dan Waktu Penelitian Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Barat pada bulan Januari–Februari 2026.

Populasi dan Sampel Populasi penelitian adalah seluruh es batu yang dijual di sekitar Kampus Politeknik TEDC Bandung. Sampel penelitian berupa lima sampel es batu yang diambil dari pedagang minuman dan produsen es batu berbeda dengan metode purposive sampling.

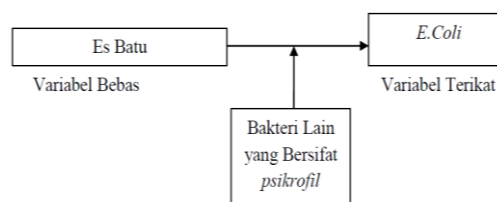
Bahan yang digunakan meliputi *Lactose Broth* (LB), *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB), ENDO Agar, *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media *Sulfide Indole Motility* (SIM), *Methyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP), Simon Citrate (SC), aquadest steril, alkohol 70%, dan sampel es batu.

Peralatan yang digunakan antara lain inkubator, autoklaf, tabung reaksi, tabung Durham, rak tabung, pipet steril, bunsen, ose, cawan petri, erlenmeyer, dan mikropipet.



**Gambar 1.** Kerangka Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran tersebut, maka disusun kerangka konsep mengenai hubungan antar variabel penelitian seperti digambarkan berikut ini:



**Gambar 2.** Kerangka Konsep

Prosedur Penelitian:

1. **Penelitian Persiapan Sampel:** sampel es batu dimasukkan ke dalam wadah steril kemudian dicairkan pada suhu ruang secara aseptik sebelum dilakukan pengujian.
2. **Uji Pendugaan (Presumptive Test):** sebanyak 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL sampel diinokulasikan ke media *Lactose Broth* yang telah dilengkapi tabung Durham. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24–48 jam. Pembentukan gas pada tabung Durham menunjukkan hasil positif koliform.
3. **Uji Penegasan (Confirmative Test):** sampel positif dari media LB diinokulasikan ke media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) dan diinkubasi pada suhu 44°C selama 24 jam. Pembentukan gas menunjukkan adanya bakteri koliform fekal.
4. **Uji Pelengkap (Completed Test):** koloni dari media BGLB ditanam pada media ENDO Agar untuk melihat karakteristik koloni. Selanjutnya dilakukan pengujian biokimia menggunakan TSIA dan IMViC untuk identifikasi *Escherichia coli*.

Data hasil pengamatan dianalisis secara deskriptif menggunakan tabel MPN dan

dibandingkan dengan standar kualitas air minum berdasarkan Permenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010.

Untuk menjamin validitas, akurasi, dan reliabilitas data yang diperoleh, seluruh tahapan pengujian mikrobiologi dalam penelitian ini dirancang dengan ketentuan sebagai berikut:

1. Pengulangan dan Sistem Pengujian: Setiap sampel es batu (n = 5) diuji secara triplo (tiga kali ulangan analisis paralel) pada setiap seri tabung ragam metode MPN (*Most Probable Number*), mulai dari uji praduga (*presumptive test*), uji penegasan (*confirmed test*), hingga uji pelengkap (*completed test*).
2. Kontrol Positif dan Kontrol Negatif: Pengendalian *error* laboratorium dilakukan dengan menyediakan kontrol negatif menggunakan akuades steril untuk mendeteksi adanya kontaminasi silang media atau alat. Kontrol positif menggunakan isolat murni *Escherichia coli* stok laboratorium untuk memastikan performa media pertumbuhan (LB, BGLB, dan ENDO agar) berjalan optimal.
3. Sterilisasi dan Kontrol Lingkungan: Seluruh peralatan gelas, media pertumbuhan, dan reagen disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Proses inokulasi dan pemindahan biakan dilakukan secara aseptis di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang telah diradiasi lampu UV selama 30 menit sebelum digunakan untuk meminimalkan *human error* dan kontaminasi udara.

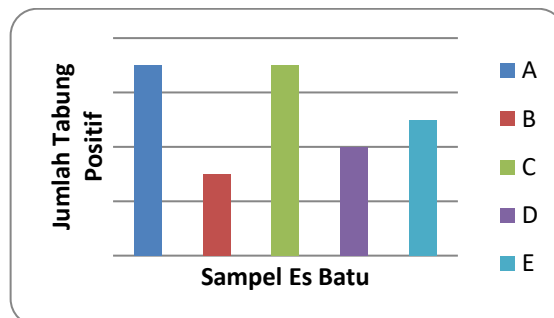
#### IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

##### A. Hasil *Presumptif test* (Uji pendahuluan atau uji perkiraan)

Setelah sampel ditanam kedalam media *Laktose Borth* (LB) dan diinkubasi dalam inkubator 37°C selama 48 jam, maka diperoleh hasil sebagai berikut seperti terlihat pada tabel berikut:

**Tabel 1.** Uji Presumtif pada Media LB

No.	Sample Minuman	Ragam	Jumlah sampel (ml)			Ket.
			10	1	0,1	
1.	Air Es (A)	5 1 1	5	1	1	+
2.	Air Es (B)	5 1 1	5	1	1	+
3.	Air Es (C)	5 1 1	15	1	1	+
4.	Air Es (D)	5 1 1	5	1	1	+
5.	Air Es (E)	5 1 1	5	1	1	+



**Gambar 3.** Grafik Jumlah Tabung Positif Uji Presumtif Koliform.

Berdasarkan hasil uji presumtif pada media *Laktose Borth* (LB), seluruh sampel es batu menunjukkan hasil positif terhadap bakteri *koliform*. Hal ini ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham setelah inkubasi selama 24–48 jam pada suhu 37°C. Sampel A dan C menunjukkan jumlah tabung positif tertinggi yaitu sebanyak 7 tabung positif, sedangkan sampel B menunjukkan jumlah positif terendah yaitu 3 tabung.

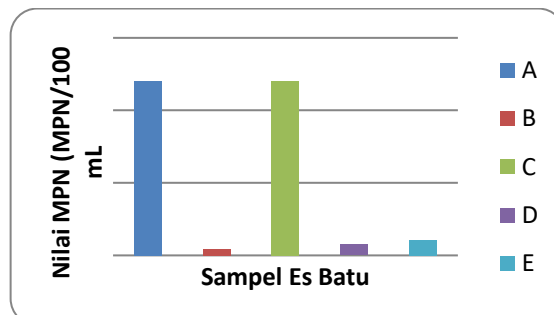
Grafik pada gambar 3, menunjukkan bahwa tingkat kontaminasi awal *koliform* pada sampel A dan C lebih tinggi dibandingkan sampel lainnya. Tingginya jumlah tabung positif mengindikasikan kemungkinan penggunaan air baku yang kurang higienis atau sanitasi alat produksi yang tidak optimal. Menurut WHO (2022), keberadaan *koliform* dalam air dan produk pangan menjadi indikator utama pencemaran mikrobiologis.

##### B. Hasil *Covirmative Test* (Uji penegasan)

Hasil perhitungan nilai MPN menunjukkan variasi tingkat kontaminasi *koliform* antar sampel es batu. Sampel A dan C memiliki nilai tertinggi sebesar 240 MPN/100 mL, sedangkan sampel B memiliki nilai terendah sebesar 8,8 MPN/100 mL.

**Tabel 2.** Nilai MPN Koliform pada Sampel Es Batu

Sampel	Kombinasi Tabung Positif	Nilai MPN (MPN/100 mL)
A	5-1-1	240,0
B	3-0-0	8,8
C	5-1-1	240,0
D	4-0-0	15,0
E	4-1-0	21,0



**Gambar 4.** Grafik Jumlah Nilai MPN Koliform pada Sampel Es Batu.

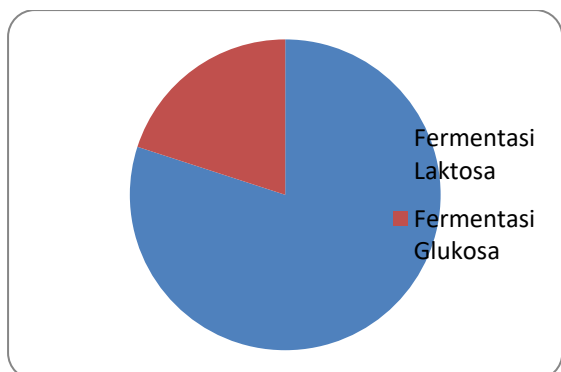
Grafik memperlihatkan perbedaan yang sangat signifikan antara sampel A dan C dibandingkan sampel lainnya. Tingginya nilai MPN menunjukkan tingginya kemungkinan kontaminasi bakteri *koliform fekal*. Faktor penyebab dapat berasal dari sumber air, kebersihan wadah penyimpanan, maupun proses distribusi es batu yang tidak steril. Semakin tinggi nilai MPN, maka semakin buruk kualitas mikrobiologi produk pangan tersebut.

C. Hasil Uji TSIA

Pengujian TSIA dilakukan untuk mengetahui kemampuan fermentasi gula oleh bakteri yang ditemukan pada sampel es batu. Hasil menunjukkan bahwa sebagian besar sampel menghasilkan warna kuning pada bagian *slant* dan *butt* yang menunjukkan kemampuan fermentasi laktosa dan glukosa.

Tabel 3. Uji TSIA

Sampel	Slant	Butt	Gas	Interpretasi
A	Merah	Kuning	+	Fermentasi glukosa
B	Kuning	Kuning	+	Fermentasi laktosa
C	Kuning	Kuning	+	Fermentasi laktosa
D	Kuning	Kuning	+	Fermentasi laktosa
E	Kuning	Kuning	+	Fermentasi laktosa



Gambar 5. Grafik Distribusi Hasil Fermentasi Uji TSIA.

Grafik menunjukkan bahwa 80% sampel mengalami fermentasi laktosa, sedangkan 20% lainnya hanya menunjukkan fermentasi glukosa. Hal ini mengindikasikan dominasi bakteri kelompok koliform yang memiliki kemampuan memfermentasi laktosa. Adanya pembentukan gas pada media TSIA juga memperkuat dugaan keberadaan bakteri enterik pada sampel es batu.

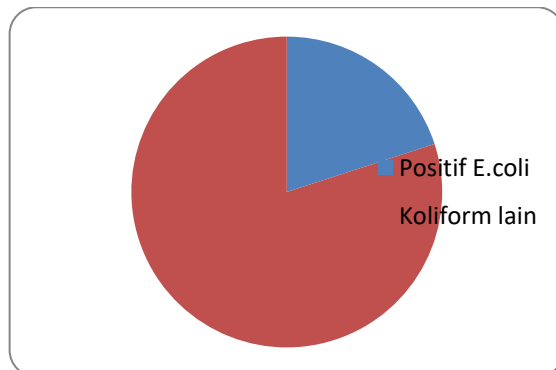
D. Hasil Uji IMViC

Tabel 4. Uji IMViC

Sampel	SIM	MR	VP	SC	Interpretasi
A	-	+	-	+	Koliform lain
B	-	+	-	+	Koliform lain
C	+	+	-	+	Koliform lain
D	+	+	-	+	Koliform lain

E	+	+	-	-	<i>Escherichia coli</i>
---	---	---	---	---	-------------------------

Hasil uji IMViC digunakan untuk memastikan identifikasi bakteri *Escherichia coli*. Berdasarkan hasil pengujian, hanya sampel E yang menunjukkan karakteristik khas *E. coli* yaitu SIM (+), MR (+), VP (-), dan SC (-).



Gambar 6. Grafik Persentase Sampel Positif *Escherichia coli*.

Grafik menunjukkan bahwa 20% sampel positif mengandung *Escherichia coli*, sedangkan 80% lainnya mengandung bakteri koliform lain. Keberadaan *E. coli* menunjukkan adanya kontaminasi fekal yang berpotensi menyebabkan penyakit saluran pencernaan seperti diare dan gastroenteritis. Walaupun jumlah sampel positif *E. coli* hanya satu, kondisi ini tetap menunjukkan rendahnya kualitas higiene sanitasi pada proses produksi es batu.

E. Perbandingan Nilai MPN dengan Standar Permenkes

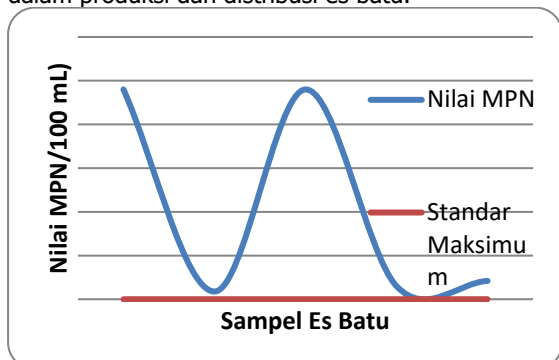
Berdasarkan Permenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010, standar kualitas air minum mensyaratkan bahwa kandungan bakteri koliform dan *Escherichia coli* harus 0 MPN/100 mL. Hasil penelitian menunjukkan seluruh sampel tidak memenuhi standar tersebut.

Tabel 5. Perbandingan Nilai MPN dengan Standar \ Permenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010

Sampel	Nilai MPN	Standar Maksimum	Status
A	240	0/100 mL	Tidak Memenuhi
B	8,8	0/100 mL	Tidak Memenuhi
C	240	0/100 mL	Tidak Memenuhi
D	15	0/100 mL	Tidak Memenuhi
E	21	0/100 mL	Tidak Memenuhi

Grafik pada gambar 7, memperlihatkan seluruh nilai MPN berada jauh di atas batas maksimum yang diperbolehkan. Sampel A dan C menunjukkan tingkat pencemaran tertinggi sehingga memiliki risiko

kesehatan paling besar. Hasil ini menunjukkan perlunya peningkatan pengawasan sanitasi, penggunaan air bersih yang memenuhi standar, serta penerapan *Good Manufacturing Practices* (GMP) dalam produksi dan distribusi es batu.



**Gambar 7.** Grafik Perbandingan Nilai MPN dengan Standar Permenkes.

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN), dari lima sampel es batu yang diproduksi masyarakat di sekitar Kampus Politeknik TEDC Bandung ditemukan satu sampel yaitu sampel E yang positif mengandung bakteri *Escherichia coli*. Keberadaan *E. coli* menunjukkan adanya indikasi pencemaran fekal yang kemungkinan berasal dari penggunaan air baku yang tidak memenuhi standar kualitas air minum, sanitasi peralatan produksi yang kurang baik, maupun kontaminasi selama proses distribusi dan penyimpanan es batu. Dilihat dari sumber air, lokasi, tempat penyimpanan, cara pembuatan atau distribusi yang membedakan sampel E dengan sampel lain sehingga menyebabkan bisa terkontaminasi bakteri *E. coli* sedangkan sampel lain negatif. Bakteri *E. coli* merupakan salah satu bakteri indikator sanitasi yang umum digunakan dalam pengujian kualitas mikrobiologi air dan pangan karena keberadaannya berkaitan erat dengan pencemaran oleh kotoran manusia atau hewan.

Bakteri *Escherichia coli* memiliki kemampuan bertahan hidup pada suhu rendah sehingga masih dapat ditemukan pada produk es batu meskipun telah mengalami proses pembekuan. Secara mikrobiologi, bakteri ini termasuk kelompok bakteri yang mampu beradaptasi pada lingkungan dingin (*psychrotrophic bacteria*) sehingga pertumbuhannya masih dapat berlangsung pada rentang suhu rendah sekitar 0–20°C. Kondisi tersebut menyebabkan proses pembekuan tidak selalu mampu menghilangkan mikroorganisme patogen dalam es batu, terutama apabila kualitas air baku dan higiene sanitasi selama proses produksi tidak dikendalikan dengan baik. Keberadaan *E. coli* dalam produk pangan berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan seperti diare, gastroenteritis, dan infeksi saluran pencernaan lainnya apabila dikonsumsi secara terus-menerus.

Sementara itu, sampel A, B, C, dan D tidak menunjukkan adanya bakteri *Escherichia coli* berdasarkan hasil uji IMViC, namun seluruh sampel TEDC Vol. 20 No. 2, Mei 2026

tetap menunjukkan hasil positif mengandung bakteri koliform lain. Tingginya nilai MPN pada beberapa sampel mengindikasikan rendahnya kualitas sanitasi dalam proses pengolahan es batu. Keberadaan bakteri koliform lain juga menunjukkan adanya kemungkinan kontaminasi mikrobiologi dari lingkungan produksi, alat pengolahan, wadah penyimpanan, maupun kontak langsung dengan pekerja selama proses distribusi. Oleh karena itu, seluruh sampel es batu yang diteliti dinyatakan tidak memenuhi persyaratan kualitas air minum sesuai Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 492/Menkes/Per/IV/2010 karena masih ditemukan kandungan bakteri koliform dan mikroorganisme indikator pencemaran lainnya.

#### F. Analisis Deskriptif dan Argumentasi Batasan Statistik

Evaluasi data dalam penelitian eksperimental deskriptif kuantitatif ini menitikberatkan pada komparasi langsung antara nilai MPN sampel dan standar baku mutu Permenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010. Mengingat keterbatasan ukuran sampel ( $n = 5$ ), uji statistik inferensial maupun analisis korelasi formal tidak diaplikasikan. Secara metodologis, jumlah sampel yang sangat terbatas tidak mampu memenuhi asumsi dasar pengujian korelasi parametrik (*Pearson*) ataupun non-parametrik (*Spearman*). Pemaksaan penggunaan uji tersebut berisiko memicu bias pada nilai signifikansi (*p-value*) serta melemahkan kekuatan statistik (*statistical power*) hasil analisis.

Kendati demikian, peninjauan secara deskriptif-kualitatif mengindikasikan adanya tren hubungan (bukan korelasi kausal statistik) antara besaran nilai MPN koliform dengan variasi spesies bakteri yang teridentifikasi. Pada sampel A dan C yang mencatatkan nilai MPN tertinggi (240 MPN/100 mL), kontaminasi didominasi oleh kelompok koliform non-*E. coli*. Sebaliknya, cemaran spesifik *Escherichia coli* justru ditemukan pada sampel E yang memiliki nilai MPN moderat (21 MPN/100 mL). Fenomena ini menunjukkan bahwa risiko kemunculan patogen fekal (*E. coli*) tidak selalu linear dengan kuantitas total bakteri koliform, melainkan lebih ditentukan oleh spesifisitas sumber pencemaran fekal sepanjang rantai produksi es batu tersebut.

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN), seluruh sampel es batu di sekitar Kampus Politeknik TEDC Bandung positif terkontaminasi bakteri koliform dan dinyatakan tidak memenuhi standar Permenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010.

Pengujian konfirmatoris lebih lanjut memastikan bahwa Sampel E positif mengandung bakteri *Escherichia coli*. Kepastian identifikasi ini didasarkan pada karakteristik spesifik yang konsisten dengan literatur standar mikrobiologi, meliputi: pertumbuhan koloni berukuran sedang dan cembung

dengan ciri khas kilap logam (*metallic sheen*) merah tua pada media ENDO Agar; hasil pewarnaan Gram yang menunjukkan sel berbentuk batang (*bacilli*) pendek berwarna merah (Gram-Negatif); serta profil biokimia IMViC khas (+ / + / - / -) melalui hasil positif pada uji SIM dan *Methyl Red*, serta negatif pada uji *Voges-Proskauer* dan *Citrate*.

Keberadaan indikator pencemaran fekal ini menegaskan mendesaknya peningkatan hygiene, sanitasi, dan pengawasan ketat pada seluruh rantai proses produksi serta distribusi es batu di lingkungan kampus.

#### B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diharapkan ada pengawasan dan pengujian berkala dari dinas kesehatan setempat supaya produsen es batu di sekitar Kampus Politeknik TEDC Bandung menerapkan hygiene sanitasi yang ketat pada seluruh rantai produksi, mulai dari sumber air, proses pembekuan, penyimpanan, hingga distribusi. Penerapan hygiene dan sanitasi diberlakukan juga pada peralatan, pekerja, lingkungan produksi, penyimpanan dan distribusi es batu sehingga mencegah terjadinya kontaminasi mikrobiologi.

Pelatihan dan sosialisasi tentang Cara Produksi Pangan Yang Baik (CPPB) perlu disosialisasikan oleh pemerintah daerah dan Badan POM supaya air yang digunakan memenuhi syarat sebagai air minum (bebas *koliform* dan *E. coli*), misalnya dengan cara merebus atau menggunakan sistem *reverse osmosis* (RO). Tindakan yang tegas juga harus diterapkan bagi produsen yang tidak memenuhi standar produksi sehingga memberikan efek jera.

Masyarakat diharapkan lebih selektif dan berhati-hati dalam mengonsumsi minuman yang menggunakan es batu, terutama dari pedagang yang kurang memperhatikan kebersihan lingkungan dan sanitasi produk pangan. Kesadaran masyarakat mengenai pentingnya keamanan pangan perlu ditingkatkan agar risiko penyakit akibat kontaminasi mikroorganisme patogen dapat diminimalkan.

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi mikroorganisme patogen lain seperti *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, dan *Staphylococcus aureus* pada es batu. Selain itu, penelitian lanjutan dapat dikembangkan dengan menganalisis efektivitas sistem sanitasi, kualitas air baku, serta penerapan *Good Manufacturing Practices* (GMP) pada industri es batu skala rumah tangga maupun industri kecil sehingga diperoleh data keamanan pangan yang lebih komprehensif.

#### DAFTAR PUSTAKA

Aji, O. R., & Fiani, N. N. (2021). Detection of Coliform and *Escherichia coli* on Ice Cubes from Beverage Sellers around Campus 4 of Universitas Ahmad Dahlan. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(2), 222–229. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p05> (Open Journal Systems)

Castro-Morales, O., Soria-Herrera, R. J., Cornejo-Estudillo, G., et al. (2024). Presence of Indicator Bacteria and Occurrence of Potentially Pathogenic Nontuberculous Mycobacteria Species in Packaged Ice Cubes in Central Mexico. *Journal of Food Protection*, 87(8), 100318. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2024.100318> (PubMed)

Chansrichavala, P., et al. (2024). Prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacterales in edible ice in Thailand. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. <https://doi.org/10.1093/trstmh/trae091> (PMC)

Dwitami, A. R., Achmadi, A., & 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). *Biopendix Jurnal Biologi Pendidikan dan Terapan*, 10(2), 194–201. <https://doi.org/10.30598/biopendixvol10issue2page194-201> (ResearchGate)

Ferreira, A. C. A. de, Monteiro, E. da S. ., Sousa, D. de O. ., Silva, C. M. de S. ., da Silva, I. C. R. ., & Castilho Orsi, D. (2022). Avaliação da qualidade microbiológica de tilápia fresca comercializada no Distrito Federal e do gelo utilizado na sua conservação. *Scientia Plena*, 17(12). <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2021.126201>

Gao, Z., Jha, A., Hudson, C. L., Hopper, A. L., Micallef, S. A., & Tikekar, R. V. (2024). Development and evaluation of a modified most probable number (MPN) method for enumerating rifampicin-resistant *Escherichia coli* in agricultural, food, and environmental samples. *Journal of Food Safety*, 44(3), e13127. <https://doi.org/10.1111/jfs.13127>

Krishna Kumar Patel, Sarita Patel, Saradia Kar. Most Probable Number [MPN] test to detect the presence of coliform from multiple drinking water sources of Janjgir-Champa district Chhattisgarh, India. *Int J Appl Res* 2025;11(11):241-248. DOI: 10.22271/allresearch.2025.v11.i11c.13013

Larawo, J. N., Harikedua, S. D., Makapedua, D., Mongi, E., Damongilala, L. J., Pongoh, J., & Kaparang, J. T. (2024). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* pada Ikan Kerapu Segar, Air dan Es pada Pedagang Pasar Bersehati di Kota Manado. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 12(2), 113–120. <https://doi.org/10.35800/mthp.12.2.2024.57634> (E-Journal of Sam Ratulangi University)

Liao, X., Shen, W., Wang, Y., Bai, L., & Ding, T. (2023). Microbial contamination, community diversity and cross-contamination risk of food-contact ice. *Food Research International*, 164, 112335.

- <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112335>  
(PubMed)
- Manetu, W., & Karanja, A. (2021). Waterborne Disease Risk Factors and Intervention Practices: A Review. *Open Access Library Journal*, 8, 1-11. <https://doi.org/10.4236/oalib.1107401>.
- Noor Andryan Ilsan, Siti Nurfajriah, Maulin Ingraini, Ni Putu Ratna Ayu Krishanti, Melda Yunita, Sipriyadi, Reza Anindita, Tzu-Wen Huang; Application of miniaturized most probable number method for bacterial detection in water samples: detection of multi-drug-resistant *Ralstonia insidiosa* in drinking water. *J Water Health* 1 September 2024; 22 (9): 1618–1627.  
doi: <https://doi.org/10.2166/wh.2024.086>
- Rizka, D. B. G., Rahayu, C., & Kristianingsih, Y. (2024). Gambaran Kualitas Mikrobiologi Es Batu Kristal Dan Es Batu Balok Pada Minuman Di Pujasera Daerah Stasiun Kereta Api Duren Kalibata. *Anakes : Jurnal Ilmiah Analisis Kesehatan*, 10(2), 176–187.  
<https://doi.org/10.37012/anakes.v10i2.2374>
- Sanjaya, I. M. B., Budayanti, N. N. S., Fatmawati, N. N. D., & Mayura, I. P. B. (2024). Cemaran Escherichia coli pada Es Batu Pedagang Minuman di Kabupaten Bangli. *Intisari Sains Medis*, 15(1).  
<https://doi.org/10.15562/ism.v15i1.1954>  
(Intisari Sains Medis)
- Thongkaow, P., Kummuda, A. ., Sawee, S. ., & Prasert Makkaew. (2021). BACTERIOLOGICAL QUALITY OF ICE AND ASSOCIATED SANITARY CONDITIONS IN FOOD AND BEVERAGE PREMISES IN THASALA, NAKHON SI THAMMARAT, THAILAND. *Malaysian Journal of Public Health Medicine*, 21(2), 252–256.  
<https://doi.org/10.37268/mjphm/vol.21/no.2/art.972>
- Triggiano, F., Apollonio, F., Diella, G., Marcotrigiano, V., & Caggiano, G. (2024). State of the Art in Hygienic Quality of Food Ice Worldwide: A Ten-Year Review. *Microorganisms*, 12(4), 690.  
<https://doi.org/10.3390/microorganisms12040690> (MDPI).
- Wang, Y., Sun, J., & Zhao, X. (2023). Advances in strategies to assure the microbial safety of food-associated ice. *Journal of Future Foods*, 3(2), 115–126.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.12.003>  
(ScienceDirect)
- Wiguna, I. G. W. W., Darwinata, A. E., Pinatih, K. J. P., & Fatmawati, N. N. D. (2022). Contamination of Escherichia coli, Salmonella sp. and Vibrio sp. on ice cubes at food stalls in Karangasem Regency, Bali Province in 2021. *Intisari Sains Medis*, 13(1), 280–283.  
<https://doi.org/10.15562/ism.v13i1.1218>
- World Health Organization (WHO). (2022). Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva: World Health Organization. (ScienceDirect).
- Yitao Lu, Jing Liu, Qian Wu, Tianming Xu, Yibaina Wang, Yingjie Pan, Yong Zhao, Zhaohuan Zhang, Microbial contamination and antimicrobial resistance in seafood-contacted ice: a study from Shanghai wholesale and retail markets, *Food Quality and Safety*, Volume 9, 2025,  
fyaf001, <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyaf001>