

Uji Cemaran Bakteri Koliform pada Sampel Makanan Jajanan Gado-Gado yang Dijual oleh Pedagang di Kecamatan Tamalate Kota Makassar

Amirah Trini Raehana¹, Ernawati Sjahruddin Kaseng², Reski Praja Putra²
Universitas Negeri Makassar
E-mail: amirahtrini@gmail.com

Article Info

Article history:

Received April 22, 2026

Revised April 26, 2026

Accepted May 20, 2026

Keywords:

Gado-gado, bakteri, koliform

ABSTRACT

*This study aims to analyze the contamination of coliform bacteria in samples of gado-gado snacks sold by traders in Tamalate District, Makassar City. Gado-gado samples were initially included in the dilution solution and planted on BGLB (Brilliant Green Lactose Broth) media and then incubated for 48 hours. There were 12 samples of gado-gado in several villages in Tamalate District. The results showed that the MPN (Most Probable Number) test obtained that samples PT3 and PT4 had the highest MPN value of 5.2 log MPN/gram while the lowest value was owned by PB1 which amounted to 3.5 log MPN/gram. Colonies that grow on EMBA (Eosin Methylene Blue Agar) media are red and white, where only samples B3 and B4 are red to be continued in the Gram stain test. In the Gram staining test, the results obtained were only samples B3 and B4 which were bacillus-shaped and Gram negative, while other isolates were coccus-shaped and Gram negative. Isolates B3 and B4 through IMViC (Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer, and Citrate) test showed identification of *Enterobacter aerogenes* bacteria. Samples of hodgepodge that went through a series of MPN tests, Gram staining, IMViC tests showed that all samples did not meet the MPN value standard, while only samples B3 and B4 contained non-fecal coliform bacteria, namely *E. aerogenes*.*

This is an open access article under the [CC BY SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



Article Info

Article history:

Received April 22, 2026

Revised April 26, 2026

Accepted May 20, 2026

Keywords:

Gado-gado, bakteri, koliform

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis cemaran bakteri koliform pada sampel makanan jajanan gado-gado yang dijual oleh pedagang di Kecamatan Tamalate, Kota Makassar. Sampel gado-gado awalnya dimasukkan dalam larutan pengencer dan ditanam pada media BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*) lalu diinkubasi selama 48 jam. Terdapat 12 sampel gado-gado dari beberapa kelurahan di Kecamatan Tamalate. Hasil menunjukkan pada uji MPN (*Most Probable Number*) diperoleh bahwa sampel PT3 dan PT4 memiliki nilai MPN tertinggi yaitu 5.2 log MPN/gram sedangkan nilai terendah dimiliki oleh PB1 yaitu sebesar 3.5 log MPN/gram. Koloni yang tumbuh pada media EMBA berwarna merah dan putih, dimana hanya sampel B3 dan B4 yang berwarna merah untuk dilanjutkan pada uji pewarnaan Gram. Pada uji pewarnaan Gram diperoleh hasil yaitu hanya sampel B3 dan B4 yang berbentuk basil dan Gram negatif, sedangkan isolat lain berbentuk coccus dan Gram negatif. Isolat B3 dan B4 melalui uji IMViC (*Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer, dan Sitrat*) menunjukkan identifikasi jenis bakteri *Enterobacter aerogenes*. Sampel gado-gado yang melalui serangkaian uji MPN, pewarnaan Gram, uji IMViC menunjukkan bahwa hanya sampel B3 dan B4 yang mengandung bakteri koliform non fekal yaitu *E. aerogenes*.



Corresponding Author:

Amirah Trini Raehana

Universitas Negeri Makassar

E-mail: amirahtrini@gmail.com

Pendahuluan

Makanan merupakan salah satu hal penting yang dibutuhkan oleh manusia dan termasuk ke dalam kebutuhan primer. *Foodborne* merupakan penyakit yang dapat disebabkan karena bakteri, racun, dan mikroorganisme lain yang terkandung dalam makanan. Adanya ancaman kesehatan itu berhubungan dengan kontaminasi makanan oleh bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, spesies *Pseudomonas*, dan *Proteus spp.* Ancaman ini bisa muncul karena praktik penyiapan makanan yang tidak aman dan tidak higienis oleh para pedagang.

Sanitasi makanan sangat penting untuk diperhatikan karena berdampak pada kesehatan tubuh seseorang. Makanan yang tidak memenuhi standar sanitasi mengarah pada penyebab suatu penyakit. Menurut perkiraan WHO (2005), terdapat sekitar 70% kasus penyakit diare yang diakibatkan karena makanan terkontaminasi oleh bakteri, misalnya bakteri koliform. Gado-gado merupakan makanan yang paling banyak diminati masyarakat namun, memiliki ancaman dalam aspek sanitasi dan pertumbuhan mikroba karena bumbu gado-gado membuat bakteri mudah tumbuh yang menyebabkan makanan akan cepat membusuk dan rusak (Anita, dkk., 2022).

Salah satu cara yang digunakan untuk menentukan kelayakan makanan adalah dengan mengukur kandungan mikrobiologis pada makanan olahan. Salah satu jenis bakteri yang dijadikan indikator adanya pencemaran makanan ialah golongan bakteri koliform. Menurut Lestari, dkk., (2023), penggunaan bakteri koliform sebagai indikator karena bakteri ini dapat berperan sebagai sebuah sinyal dalam mengetahui apakah makanan yang diuji memiliki potensi keberadaan kontaminasi bakteri.

Menurut Standar Nasional Jakarta (SNI) Jakarta. 7388-2009 mengenai batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan ialah <3 MPN/g agar makanan dikategorikan layak konsumsi. Standar mutu ini akan membantu menentukan tingkat kontaminasi dan memastikan bahwa makanan aman untuk dikonsumsi. Apabila bakteri koliform masuk ke saluran pencernaan, maka akan membuat penderitanya mengalami penyakit diare.

Metode Penelitian

Alat

Peralatan yang digunakan yaitu tabung reaksi, tabung Durham, rak tabung, Erlenmeyer, cawan petri, wadah, beaker glass, spatula, batang pengaduk, jarum ose,

bunsen, Laminar air Flow (LAF), pipet volume, mikropipet, gelas kimia, 133istrik133 stirrer, autoklaf, oven, timbangan analitik, mikroskop, dan hotplate.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu sampel gado-gado, media BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*), EMBA (*Eosin Methylene Blue Agar*), NaCl, akuades, alkohol 70%, spiritus, kapas, aluminium foil, plastik wrap, kertas label, zat untuk pewarnaan sel bakteri seperti kristal violet, iodin, aseton, dan safranin, serta bahan untuk uji IMVIC seperti *Sulfide Indole Motility* (SIM), media MR/VP, media *Simmons Citrate*, metil red, pereaksi Kovaks, alpha naphthol dan 40% KOH.

Prosedur Penelitian

1. Persiapan sampel

Sampel gado-gado diambil sebanyak 25gr untuk dihancurkan kemudian dimasukkan dalam plastik berisi 225 ml larutan pengencer NaCl yang telah disterilisasi lalu dihomogenkan (pengenceran 10^{-1}). Pengenceran 10^{-2} dibuat dengan mengambil 1 ml pengenceran 10^{-1} yang kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml larutan pengencer NaCl dalam tabung reaksi. Campuran itu dihomogenkan hingga terbuatlah pengenceran 10^{-2} . Lakukan hal yang sama pada pengenceran 10^{-2} untuk membuat pengenceran 10^{-3} .

2. Uji MPN (SNI-06-2897-1992)

Uji Penduga : Sampel diambil menggunakan mikropipet sebanyak 1 ml larutan untuk setiap pengenceran ke dalam masing-masing 3 seri tabung berisi media BGLB yang berisi tabung Durham. Homogenkan . lalu inkubasi tabung-tabung tersebut selama 48 jam pada suhu 35°C .

Uji Pelengkap : Hasil dari tabung positif media BGLBB digoreskan ke dalam cawan petri berisi media EMBA secara aseptik menggunakan jarum ose, lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C

Uji Penguat : Koloni bakteri yang tumbuh pada media EMBA dan terbukti memiliki ciri sel bakteri berbentuk basil dan Gram negatif selanjutnya ditanam pada media BGLB. Isolat bakteri diambil dengan jarum ose lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C .

3. Uji Pewarnaan Gram

Koloni bakteri yang diwarnai diambil dari media EMBA lalu diusapkan pada kaca preparat. Bakteri pertama kali ditetesi dengan larutan kristal violet lalu didiamkan selama 1 menit kemudian dicuci dengan akuades. Larutan iodine ditetaskan selama 1 menit lalu dicuci. Lakukan dekolorisasi menggunakan etanol 95% hingga seluruh warna ungu hilang, lalu cuci kembali dengan akuades. Bubuhkan safranin selama 45 detik dan cuci kembali dengan akuades. Kaca preparat dikeringkan kemudian sel bakteri kemudian diamati di bawah mikroskop.

4. Uji Biokimia

Uji Indol : Bakteri uji yang sebelumnya sudah ditumbuhkan, diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media Sulfide Indole Motility (SIM). Bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C . Setelah itu, media ditambahkan 5 tetes reagen kovac's ke dalam masing-masing tabung dan didiamkan selama 10 menit.

Uji Methyl Red : Bakteri uji yang sebelumnya sudah ditumbuhkan, diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media MRVP broth kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35oC. Uji metil red dilakukan dengan menambahkan 5 tetes metil red pada MRVP broth.

Uji Voges Proskauer : Bakteri uji yang telah ditumbuhkan pada media diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam media MRVP broth. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 35oC. Media kemudian ditambahkan 0,6 ml larutan alpha naphtol dan 0,2 ml 40% KOH lalu didiamkan selama 10 menit.

Uji Citrate : Goreskan 1 ose dari bakteri yang ditumbuhkan ke permukaan simmon citrate agar. Inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C.

Hasil

1. Lokasi Sampel

Hasil survei pada penjual gado-gado di Kecamatan Tamalate, telah ditemukan 5 kelurahan dari 11 kelurahan yang memiliki pedagang gado-gado. 5 penjual di kelurahan Parang Tambung, 1 penjual di Kelurahan Mangasa, 1 penjual di Kelurahan Jongaya, 1 penjual di Kelurahan Pa'baeng-Baeng, dan 4 penjual di Kelurahan Barombong. Total sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 12 penjual gado-gado di Kecamatan Tamalate.

2. Kondisi Lingkungan

Pedagang gado-gado yang ditemukan pada Kecamatan Tamalate menjual dalam dua bentuk yaitu gerobak dorong dan warung makan. Pedagang gado-gado dalam bentuk gerobak dorong umumnya berjualan dengan rentang waktu terbatas yaitu mulai dari pagi hingga siang atau sore hingga malam, karena faktor kurangnya fasilitas sehingga membatasi tempat penyimpanan, air, dan listrik. Sementara itu, pedagang gado-gado dengan bentuk warung makan memiliki lingkungan kerja yang lebih baik dari pedagang jenis gerobak karena sarana dan fasilitasnya dapat menjaga kualitas bahan dan proses memasak. Praktik higiene pedagang yang tidak memenuhi standar serta kondisi tempat berjualan yang kurang baik menyebabkan tingginya tingkat kandungan bakteri koliform pada makanan. Dalam faktor sumber air, masyarakat di Kecamatan Tamalate menggunakan pelayanan PDAM sementara sebagian lainnya memiliki sumur bor atau sumur gali (Sadewa dan Musa, 2020).

3. Pengujian MPN

Uji Penduga

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan pada sampel gado-gado di Kecamatan Tamalate, diketahui bahwa nilai MPN tertinggi terdapat pada Kelurahan Parang Tambung sampel 3 (PT3) dan Parang Tambung sampel 4 (PT4) yaitu sebesar 4.7 log MPN/gram sedangkan nilai terendah dimiliki oleh PB1 yaitu sebesar 3.8 log MPN/gram.

Tabel 1 Hasil Uji Penduga (*Presumptive Test*)

Sampel	Ulangan	Pengenceran			Kombinasi MPN	Log MPN/g	Rata-Rata
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴			
PT1	Ulangan 1	++-	---	+-	2-0-1	4.1	4.2
	Ulangan 2	+-	+-	+-	1-1-1	4.0	
	Ulangan 3	++-	+-	+-	2-1-1	4.3	
PT2	Ulangan 1	+++	+-	+-	3-1-0	4.6	4.7
	Ulangan 2	+++	++-	---	3-2-0	5.0	

	Ulangan 3	+++	+--	---	3-1-0	4.6	
PT3	Ulangan 1	+++	---	+--	3-0-1	4.6	4.7
	Ulangan 2	+++	++-	+--	3-2-1	5.2	
	Ulangan 3	++-	++-	+--	2-2-1	4.4	
PT4	Ulangan 1	---	+--	+++	0-1-3	4.1	4.6
	Ulangan 2	+++	++-	---	3-1-0	4,6	
	Ulangan 3	+++	++-	+--	3-2-1	5.2	
PT5	Ulangan 1	++-	+--	---	2-1-0	4.2	4.1
	Ulangan 2	++-	---	---	2-0-0	4.0	
	Ulangan 3	++-	+--	---	2-1-0	4.2	
M1	Ulangan 1	++-	++-	---	2-2-0	4.3	4.5
	Ulangan 2	+++	+--	---	3-1-0	4.6	
	Ulangan 3	++-	++-	+--	2-2-1	4.4	
J1	Ulangan 1	++-	---	++-	2-0-2	4.3	4.2
	Ulangan 2	++-	+--	+--	2-1-1	4.3	
	Ulangan 3	+--	++-	---	1-2-0	4.0	
PB1	Ulangan 1	+--	---	+--	1-0-1	3.8	3.8
	Ulangan 2	++-	---	---	2-0-0	4.0	
	Ulangan 3	+--	---	---	1-0-0	3.5	
B1	Ulangan 1	++-	---	+--	2-0-1	4.1	4.5
	Ulangan 2	+++	+--	---	3-1-0	4.6	
	Ulangan 3	+++	+--	---	3-1-0	4.6	
B2	Ulangan 1	+++	---	+--	3-0-1	4.6	4.7
	Ulangan 2	+++	+--	---	3-1-0	4.6	
	Ulangan 3	+++	+--	+--	3-1-1	4.9	
B3	Ulangan 1	+--	+--	+--	1-1-1	4.0	4.2
	Ulangan 2	++-	+--	---	2-1-0	4.2	
	Ulangan 3	++-	++-	---	2-2-0	4.3	
B4	Ulangan 1	++-	+--	+--	2-1-1	4.3	4.2
	Ulangan 2	++-	++-	---	2-2-0	4.3	
	Ulangan 3	+--	+--	+--	1-1-1	4.0	

Hasil ini menunjukkan bahwa sampel gado-gado tidak memenuhi standar dari nilai MPN yaitu <3 MPN/g atau 1×10^4 koloni/g berdasarkan SNI 7388-2009, namun masih memenuhi standar total mikroba pada makanan yaitu kurang dari 10^5 atau 10^6 CFU/g, tentang batasan maksimum cemaran mikroba dalam pangan. Sebagai contoh, apabila dalam suatu sampel air terdapat nilai MPN 10/g, hal itu menunjukkan bahwa dalam sampel air tersebut terkandung setidaknya 10 koliform pada setiap gramnya (Manan, 2019).

Uji Pelengkap



Gambar 1. Uji Pelengkap

Hasil menunjukkan bahwa sebagian besar koloni bakteri yang tumbuh pada media EMBA berwarna putih yaitu sebanyak 10 sampel dari 12 sampel yang diuji meliputi PT1, PT2, PT3, PT4, PT5, M1, J1, PB1, B1, dan B2. Sementara itu, hanya 2 sampel dengan koloni yang tumbuh berwarna merah yaitu pada Kelurahan Barombong sampel 3 (B3) dan Barombong sampel 4 (B4). Koloni yang tumbuh pada media mengindikasikan tumbuhnya bakteri tertentu yang dapat dilihat dari warna yang tumbuh.

Uji Penguat

Isolat dengan kode B3 dan B4 memenuhi syarat dan setelah diinkubasi selama 48 jam diperoleh hasil bahwa B3 dan B4 tetap memiliki kekeruhan pada media BGLB dan menghasilkan gas berupa karbon dioksida (CO²) pada tabung Durham. Hal tersebut menandakan bahwa sampel yang diuji positif mengandung bakteri koliform.

1. Pewarnaan Gram

Tabel 2 Hasil Pewarnaan Gram

No.	Sampel	Penampakan Bakteri		Gram Bakteri
		Warna	Bentuk	
1.	PT1	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
2.	PT2	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
3.	PT3	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
4.	PT4	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
5.	PT5	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
6.	M1	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
7.	J1	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
8.	PB1	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
9.	B1	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
10.	B2	Merah	<i>Coccus</i>	Gram Negatif
11.	B3	Merah	<i>Basil</i>	Gram Negatif
12.	B4	Merah	<i>Basil</i>	Gram Negatif

Hasil pengujian pewarnaan Gram sel koloni yang diambil dari media EMBA diperoleh hasil bahwa hanya sel bakteri B3 dan B4 yang memiliki bentuk basil, sedangkan sel bakteri lainnya berbentuk *coccus*. Hasil uji menunjukkan bahwa semua sel bakteri berwarna merah termasuk kategori bakteri Gram negatif. Data sel koloni yang diuji dari 12 sampel di kecamatan Tamalate, hanya 2 sel koloni yang berbentuk basil dan dilanjutkan untuk pengujian selanjutnya.

2. Hasil Uji IMViC

Tabel 3 Hasil Uji IMViC Pada Sampel Gado-Gado

Sampel	Indole	Metil Red	Voges-Proskauer	Citrat	Keterangan
B3 ulangan 2	-	+	-	+	<i>E. Aerogenes</i>
B4 ulangan 3	-	+	-	+	<i>E. Aerogenes</i>

Hasil menunjukkan bahwa bakteri yang didapatkan adalah jenis *Enterobacter Aerogenes*. Data tersebut diketahui dengan melihat hasil positif dan negatif dari isolat yang diinokulasi uji IMViC. Hasil bakteri *E. aerogenes* juga ditegaskan dengan pengujian sebelumnya yaitu positif pada uji MPN dan pewarnaan Gram.

Pembahasan

1. Uji MPN

Uji Penduga

Hasil dari penelitian diketahui bahwa semua sampel gado-gado yang diuji positif mengandung bakteri koliform di dalamnya dengan nilai yang berbeda-beda. Sampel dengan nilai MPN tertinggi terdapat pada sampel PT2 dan PT2 yaitu sebesar 4.7 log MPN/g, sedangkan nilai terendah dimiliki oleh sampel PB1 yaitu sebesar 3,8 log MPN/g. Hasil nilai MPN yang tinggi disebabkan lokasi pengambilan sampel PT2 dan PT3 yang terletak di dekat jalan raya sehingga meningkatkan risiko kontaminasi oleh bakteri. Kerusakan makanan dapat terjadi karena adanya faktor dari luar atau perlakuan manusia (Sitepu, 2015).

Semua sampel dari Parang Tambung (PT) memiliki rata-rata hasil yang tertinggi dari semua sampel yaitu sebesar 4.4 MPN/g. Keadaan pedagang menjadi salah satu faktor tingginya nilai MPN yaitu penggunaan gerobak dorong dan fasilitas yang terbatas untuk mengolah makanan gado-gado. Penjaga yang kurang memperhatikan kebersihan lingkungan serta dekat dengan tempat pembuangan sampah mempengaruhi tingkat kontaminasi makanan. Sampel PB1 memiliki nilai MPN terendah yaitu 3.8 MPN/g dengan rata-rata 3.8 MPN/g dipengaruhi oleh letak lokasi penjualan di dekat jalan raya dengan keadaan bahan-bahan yang tertutup dengan plastik dan penutup wadah sehingga mencegah adanya kontaminasi dari luar.

Sampel B1, B2, B3, dan B4 dengan rata-rata nilai 4.4 MPN/g tidak memenuhi standar nilai MPN. Berdasarkan SNI 7388:2009 bahwa batas nilai MPN bakteri dalam bahan pangan adalah <3 MPN/g. Hasil nilai pada sampel yang tidak terlalu tinggi dan rendah diakibatkan oleh penyimpanan bahan makanan. Sampel M1 dan J1 memiliki nilai sedang di antara sampel yang diuji MPN yaitu sekitar 4.2 MPN/g, lebih rendah dari nilai MPN tertinggi dari 5.2 MPN/g dan lebih tinggi dari nilai MPN terendah yaitu 3.8 MPN/g. Risiko cemaran bakteri dijelaskan oleh Ahmednur (2022) bahwa efek dari cuci tangan tidak bisa menghindarkan terbebasnya bakteri koliform dari tangan. Namun, kegiatan mencuci tangan sebelum mengelola makanan dianggap efektif untuk mengurangi risiko kontaminasi bakteri patogen (Romanda, 2016). Pengujian koliform menggunakan metode MPN ini digunakan sebagai penilaian indeks higienis makanan karena pengujiannya lebih mudah dievaluasi dan memerlukan waktu yang lebih singkat dibanding bakteri keracunan makanan (Kang, dkk., 2020).

Media BGLB yang digunakan mengandung bahan untuk mendukung pertumbuhan dan menghambat bakteri tertentu. Garam empedu atau brilliant green yang terkandung dalam media ini hanya dapat menumbuhkan jenis koliform dan nantinya akan mencegah tumbuhnya bakteri selain koliform (Cahya dan Amir, 2019). Kandungan laktosa berfungsi sebagai sumber karbohidrat atau energi yang akan difermentasikan bakteri (Saridewi, dkk., 2016). Bakteri non koliform dapat tumbuh di media ini, namun pertumbuhannya kurang optimal. Contoh dari bakteri non koliform yaitu *Shigella sp.*, *Salmonella sp.*, dan *Proteus sp* (Wiliantari, dkk., 2018).

Uji Pelengkap

Hasil penelitian yang telah dilakukan pada media EMBA, bahwa bakteri yang tumbuh bermacam-macam, yaitu dengan total 10 sampel berwarna putih dan sebanyak 2 sampel koloni berwarna merah atau merah muda. Menurut Sabaaturohma, dkk., (2020) bakteri yang tumbuh pada EMBA jika berwarna coklat gelap seperti mata ikan serta berwarna hijau metalik, merah muda atau merah kecokelatan, maka koloni tersebut adalah koliform, sedangkan jika bakteri tumbuh berwarna putih maka bakteri tersebut adalah non-koliform. Hal ini sejalan dengan Darna, dkk., (2018) bahwa anggota bakteri *Escherichia coli* akan tumbuh berwarna hijau metalik yang disebabkan kemampuan bakteri dalam memfermentasi laktosa dan metilen blue, sedangkan jenis bakteri *E. aerogenes* akan menumbuhkan koloni berwarna merah muda dan tidak berwarna.

Selain dari *E. aerogenes*, warna merah muda pada koloni bakteri juga menunjukkan kemampuan *Klebsilla sp.* dalam memfermentasi laktosa namun menghasilkan asam yang bersifat lemah (Cahyaningtyas, dkk., 2024). Bakteri yang memiliki ciri-ciri koliform selanjutnya akan dilakukan uji lanjutan yaitu pewarnaan Gram untuk lebih memastikan bahwa bakteri yang tumbuh merupakan bakteri *E. coli* yang didasarkan morfologi bakteri dan sifat Gram bakteri (Wulandari, dkk., 2019).

Uji Penguat

Pengujian ini bertujuan untuk memastikan bakteri yang tumbuh pada media EMBA benar-benar bakteri koliform. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri B3 dan B4 menunjukkan hasil positif bakteri koliform dibuktikan dengan adanya kekeruhan pada media serta terbentuknya gas pada tabung Durham. Bakteri koliform yang menggunakan laktosa untuk menghasilkan asam dan gas merupakan bakteri Gram negatif dan anaerob fakultatif yang termasuk dalam bakteri usus. Salah satu anggota kelompok koliform adalah *E. coli*. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri koliform yang ditemukan pada tinja manusia, sehingga bakteri *E. coli* ini juga sering disebut sebagai koliform fekal (Aditia dan Muthiadin, 2015). Menurut Aswan, dkk., (2017), bakteri koliform fekal dapat menjadi sinyal bahwa sumber air terkontaminasi bakteri patogen.

Terdapat jenis koliform lain selain koliform fekal. Menurut Sabaaturohma, dkk., (2020), bakteri koliform seperti *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp* dan *Klebsiella spp* juga dapat ditemukan pada lingkungan seperti tanah, vegetasi atau permukaan air, bakteri ini termasuk dalam kelompok bakteri koliform non-fekal. Dalam Rophi (2022) juga menyebutkan bahwa *E. aerogenes* yang merupakan bakteri non fekal biasa ditemukan pada tanaman-tanaman dan hewan yang telah mati. Pengujian dengan tahapan penting untuk memastikan bahwa bakteri tumbuh sesuai dengan tujuan yang diinginkan karena ketika industri makanan melibatkan aktivitas bakteri yang kompleks, seperti produksi keju, keakuratan deteksi bakteri menjadi sangat penting (Molina, dkk., 2015)

2. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk melihat morfologi bakteri dan membedakan antara bakteri Gram negatif dan Gram positif. Hal ini sejalan dengan Amin, dkk., (2023) yaitu untuk memberi warna pada sel bakteri atau bagian-bagiannya, sehingga menunjukkan perbedaan kontras dan sel bisa dapat terlihat lebih jelas saat pengamatan di bawah mikroskop. Pewarnaan Gram memudahkan melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel vakuola, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, menghasilkan sifat-sifat dan kimia yang khas bakteri dengan zat warna,

serta untuk meningkatkan kontras dan perbedaan mikroorganisme dengan sekitarnya (Virgianti dan Luciana, 2017). Hasil akhir pengujian menunjukkan apakah bakteri itu termasuk Gram negatif atau Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki ciri berwarna merah, sedangkan bakteri Gram positif memiliki warna ungu (NauE, dkk., 2022).

Hasil dari penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan bahwa semua sampel yang diuji pewarnaan Gram diperoleh warna merah, sedangkan bentuknya sebagian besar berbentuk *coccus* (bulat) yaitu pada sel bakteri PT1, PT2, Pt3, PT4, PT5, M1, J1, PB1, B1, dan B2, sedangkan sampel B3 dan B4 berbentuk *basil* (batang). Menurut Meganada (2017), perbedaan respons terhadap mekanisme pewarnaan Gram pada bakteri didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Hal ini sesuai dengan Ismail, dkk., (2017) yang menyatakan bahwa dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari 5-20% peptidoglikan, sedangkan sisanya adalah polisakarida. Wardani (2020), menjelaskan bahwa bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna kristal violet, sehingga akhirnya mengambil warna sekunder berupa safranin. Bakteri yang telah terwarnai jika termasuk bakteri Gram negatif akan kehilangan zat pewarna kristal violet setelah dicuci menggunakan safranin atau zat pewarna air fuchsin, sedangkan bakteri Gram positif akan mempertahankan zat pewarna kristal violet (Susanto, 2016).

3. Uji IMViC

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi, uji biokimia bakteri berkaitan dengan proses metabolisme sel bakteri (Wardani, 2020). Uji biokimia ini meliputi uji Indol, uji metil red, uji Voges Proskauer, dan uji citrat (Safitri, dkk., 2019).



Gambar 2. Hasil Pengujian IMViC

Hasil dari uji biokimia menggunakan isolat bakteri dari media setelah diinkubasi selama 24 jam yaitu isolat yang diuji yaitu B3 dan B4 menunjukkan hasil yang sama yaitu keduanya memiliki hasil indol (-), Metil red (+), Voges-Proskauer (-), dan Sitrat (+). Menurut Wardani, (2020), isolat bakteri yang hasilnya negatif disebabkan karena isolat bakteri tidak mempunyai kemampuan menggunakan enzim triptophanase untuk menghasilkan indol.

Uji Metil Red, isolat yang diambil dari media setelah ditetaskan reagen metil red menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan media yang berubah warna menjadi merah. Basuni, (2017) menjelaskan bahwa hasil negatif jika setelah ditetaskan Metil red tidak terjadi perubahan warna media menjadi merah, sedangkan hasil positif

terjadi jika media berubah merah setelah ditambah methyl red. Pengujian ini dilakukan untuk mengidentifikasi adanya fermentasi asam campuran yaitu metilen glikon.

Uji Voges-Proskauer atau VP menunjukkan hasil negatif setelah isolat diinkubasi selama 24 jam, karena tidak terjadi perubahan warna setelah penambahan α naphthol 5% dan KOH 40%. Menurut Basuni (2017), hasil dari uji VP dikatakan negatif (-) bila tidak ada perubahan warna pada media, sedangkan hasil positif (+) jika media berubah menjadi warna merah setelah penambahan α naphthol 5% dan KOH 40%.

Uji Sitrat menggunakan media miring Simmons citrat yang telah diinkubasi selama 24 jam menunjukkan hasil positif karena adanya perubahan media menjadi warna biru. Hasil negatif terjadi jika media tidak berubah warna, yaitu tetap berwarna hijau. Perubahan media dari warna hijau ke warna biru disebabkan karena bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon sehingga media berubah menjadi basa. Jika hasil media tetap menunjukkan warna hijau karena bakteri tersebut tidak memiliki enzim sitrat permease yang berperan sebagai enzim spesifik pengangkut sitrat ke dalam sel (Basuni, 2017).

4. Hasil Identifikasi Bakteri Koliform

Serangkaian pengujian MPN, pewarnaan Gram, dan uji IMViC menunjukkan adanya bakteri koliform non-fekal pada sampel B3 dan B4. Penggunaan media selektif berupa BGLB dan EMBA yang memiliki kandungan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif sehingga hanya bakteri Gram negatif yang tumbuh (Wardani, 2020). Hasil dari pengujian IMViC diperoleh identifikasi bakteri *E. aerogenes* pada B3 dan B4. Sampel selain B3 dan B4 mengandung bakteri Gram negatif namun tidak termasuk pada golongan bakteri koliform.

Kesimpulan

Secara keseluruhan, semua makanan gado-gado yang diuji positif mengandung bakteri dan tidak memenuhi standar nilai <3 MPN/gram berdasarkan SNI 7388:2009. Penelitian ini mengidentifikasi bakteri koliform yang berasal dari 2 sampel dari total 12 sampel di kecamatan Tamalate. Sampel yang positif mengandung bakteri koliform berasal dari Kelurahan Barombong sampel 3 (B3) dan Barombong sampel 4 (B4) berdasarkan uji penegas menggunakan media EMBA yaitu koloni bakteri tumbuh berwarna merah, serta hasil Gram negatif dengan bentuk basil. Pengujian biokimia dengan uji IMViC mengidentifikasi jenis bakteri yang tumbuh menunjukkan hasil jenis bakteri yang merupakan bakteri *E. aerogenes*

Saran

Disarankan bagi peneliti selanjutnya agar meningkatkan jumlah sampel atau memperluas area pengambilan sampel guna memperoleh gambaran kontaminasi koliform yang lebih luas. Selain itu, pengujian sampel bisa dilakukan dengan metode yang berbeda misalnya metode kromogenik (media selektif berwarna) atau filtrasi membran (untuk sampel cair).

Daftar Pustaka

- Aditia, L., & Muthiadin, C. (2015). Uji Kualitas Mikrobiologis Pada Makanan Jajanan Di Kampus II Universitas Islam Negeri (UIN) Alauddin Makassar. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*, 3(2), 119-123
- Ahmednur, M., Esmael, M., & Feres, F. (2022). *Handwashing practice of food establishment customers, microbial quality of handwashing water, and associated factors in Ginjo Kebele, Jimma town, Southwest Ethiopia. Environmental Health Insights*, 16.
- Amin, S, S., Ghozali, T, Z., & Efendi, M, R, S. (2023). Identifikasi Bakteri dari Telapak Tangan dengan Pewarnaan Gram Identification of Bacteria from Palms with Gram Stain. *Jurnal Kimia dan Ilmu Lingkungan*, 1(1), 30-35.
- Anita., Tosepu, R., & Nirmala, F, G. (2022). Identifikasi Bakteri Salmonella Sp Pada Gado-Gado Yang Dijual Area Kampus Universitas Halu Oleo Tahun 2021. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Celebes*, 3(1), 1-8.
- Aswan, M., Darlian, L., & Yanti, N, A. (2017). Analisis Bakteri Koliform dan Patogen Depot Air Minum Kecamatan Mandonga Kota Kendari. *Prosiding Dari Seminar Nasional Riset Kuantitatif Terapan 2017*. Kendari, 8 April 2017, 3-8.
- Badan Standar Nasional. (2009). *Standar Nasional Indonesia, SNI 7388:2009, Batas Maksimum Cemaran Mikroba Dalam Pangan*. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta.
- Basuni, R. (2017). *Modul Keahlian Ganda Kesehatan Hewan Sekolah Menengah Kejuruan Mikroorganisme dan Vaksinasi*. Penerbit Kementerian Pendidikan Dan Kebudayaan Pusat Pengembangan Dan Pemberdayaan Pendidik Dan Tenaga Kependidikan Pertanian Cianjur.
- Cahya T, Amir M M. Uji Cemaran Mikroba Es batu Pada Minuman Dilingkungan Pasar Kecamatan Jagakarsa, Jakarta Selatan. *Sainstech Farma*. 2019;12(2):78–84.
- Cahyaningtyas, D. E., Gaina, C. D., & Tangkonda, E. (2024). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri escherichia coli, klebsiella Sp., Dan staphylococcus aureus Pada Ambing Dan Susu Kambing Peranakan Etawa. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 7(1), 41-52.
- Darna., Masnur Turnip., Rahmawati. (2018). Identifikasi Bakteri Anggota Enterobacter Pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong, *Jurnal Labora Medika*, 2, 6-12.
- Ismail, Y. S., Yulvizar, C., & Putriani, P. (2017). Isolasi, Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Bakteri Asam Laktat dari Fermentasi Biji Kakao (Theobroma cacao L.). *Journal of BioLeuser*, 1(2).
- Kang, J., Lee, S., Jo, A., Park, E., Bak, Y., & Kim, J. (2020). Improving the accuracy of coliform detection in meat products using modified dry rehydratable film method. *Food Science and Biotechnology*, 29(9), 1289-1294.

- Lestari, E, T., Hermat., Shalsadilla, R., & Maelaningsih, F, S. (2023). Analisis Cemaran Mikroba (*Coliform, Escherichia Coli*) Pada Makanan dan Minuman Di Pasaran. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 1(2), 1-15.
- Manan, S. (2019). Analisis Kandungan Bakteri Coliform Pada Ikan Nila (*Oreochromis Niloticus*) Di Waduk Tunggu Pampang Kota Makassar. (Skripsi Sarjana, UIN Alauddin Makassar).
- Meganada H, P., Sukini, S.SiT, MH.Kes., Yodong, S.St., MH.Kes, (2017), *Mikrobiologi Bahan Ajar Keperawatan Gigi*, Penertbit Pusat Pendidikan Sumberdaya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan Dan pemberdayaan Sumberdaya Manusia Kesehatan, Jakarta Selatan.
- Molina, F., López-Acedo, E., Tabla, R., Roa, I., Gómez, A., & Rebollo, J. E. (2015). Improved detection of escherichia coli and coliform bacteria by multiplex PCR. *BMC Biotechnology*, 15(1).
- NauE, D, B., Karneli., Syailendra, A., Syafitri, I., Wulandari, S., & Julianti, W. (2022). Buah BIT (*Beta vulgaris L.*) Sebagai Alternatif Safranin Pada Pewarnaan Gram. *Husada Mahakam: Jurnal Kesehatan*, 24(12), 19-24.
- Romanda, F. (2016). Hubungan Personal Hygiene dengan Keberdaan Escherchia coli pada Makanan di Tempat Pengolahan Makanan (TPM) Buffer Area Bandara Adi Soemarmo Surakarta. *Jurnal. Universitas Muhammadiyah Surakarta*.
- Rophi, A, H. (2022). Analisis Mutu Air Secara Mikrobiologi Pada Perlindungan Mata Air Di Kelurahan Sentani Kota Distrik Sentani Kota Kabupaten Jayapura. *Jurnal Pendidikan Biologi*, 9(1).
- Sabaaturohma, C. L., Gelgel, K. T., & Suada, I. K. (2020). Jumlah Cemaran Bakteri coliform Dan non-coliform pada air Di RPU Di Denpasar Melampaui Baku Mutu Nasional. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(1), 139-147.
- Sadewa, A, S., & Musa, R. (2020). *Kajian Aktivitas Penggunaan Air Bersih Pdam Di Kecamatan Tamalate Kota Makassar*. Artikel Universitas Muslim Indonesia (UMI), 4(1).
- Safitri, E., Hidayati, N, A., & Hertati, R. (2019). Prevalensi Bakteri Salmonella Pada Ayam Potong Yang Dijual Di Pasar Tradisional Pangkalpinang. *Ekotonia: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*, (4)1, 25-30.
- Saridewi, I., Pambudi, A., & Ningrum, Y.F. (2016). Analisis Bakteri Escherichia coli Pada Makanan Siap Saji Di Kantin Rumah Sakit X Dan Kantin Rumah Sakit Y. *Bioma* 12, 90.
- Sitepu, E, L (2015). Analisis Personal Hygiene Pada Penjual Makanan Tradisional Gado – Gado Di Kelurahan Pisangan, Cempaka Putih Dan Cireundeu Ciputat. (Skripsi Sarjana, Universitas Islam Negeri).
- Susanto, H. (2016). *Pemeriksaan Protozoa, Helminthes*. PPPPTK Bisnis dan Pariwisata.

- Virgianti, D. P., & Luciana, C. (2017). Penggunaan Ekstrak Kombinasi Angkak dan Daun Jati Sebagai Pewarna Penutup Pada Pewarnaan Gram. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 17(1), 68-72.
- Wardani, D. L., & Setiyaningrum, Z. 2020. Identifikasi Bakteri Escherichia coli pada Saus Makanan Jajanan di Sekitar Kampus Universitas Muhammadiyah Surakarta. *Jurnal Kesehatan*, 12(2), 91- 101
- WHO. (2005), *Penyakit Bawaan Makanan Fokus Pendidikan Kesehatan*. EGC.
- Wiliantari, P., Besung, I. N., & Tono PG, K. (2018). Bakteri coliform Dan non coliform Yang Diisolasi Dari Saluran Pernapasan sapi Bali. *Buletin Veteriner Udayana*, 40. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2018.v10.i01.p06>
- Wulandari, D., & Purwaningsih, D. (2019). Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Amilolitik pada Umbi Colocasia esculenta L. secara Morfologi, Biokimia, dan Molekuler. *Jurnal Bioteknologi dan Biosains Indonesia*, 6(2), 247-258.