

**PERBEDAAN Angka Lempeng Total (ALT) DAN *Most Probable Number (MPN) Escherichia coli* PADA MINUMAN COKLAT DENGAN ES BATU DAN TANPA ES BATU DI DAERAH JEBRES, MOJOSONGO DAN NUSUKAN**

**KARYA TULIS ILMIAH**

Untuk memenuhi persyaratan sebagai

Ahli Madya Analis Kesehatan



Oleh:

Endah Restiana

33152881J

**PROGRAM STUDI D-III ANALIS KESEHATAN**

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN**

**UNIVERSITAS SETIA BUDI**

**SURAKARTA**

**2018**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

KARYA TULIS ILMIAH :

**PERBEDAAN Angka Lempeng Total (ALT) DAN *Most Probable Number* (MPN) *Escherichia coli* PADA MINUMAN COKLAT DENGAN ES BATU DAN TANPA ES BATU DI DAERAH JEBRES, MOJOSONGO DAN NUSUKAN**

Oleh :

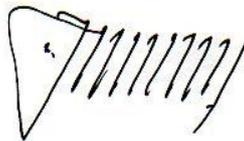
**ENDAH RESTIANA**

**33152881J**

Surakarta, 18 Mei 2018

Menyetujui Untuk Ujian Sidang KTI

Pembimbing



**Rahmat Budi Nugroho, S.Si, M.Sc.**

NIS. 01201403161181

**LEMBAR PENGESAHAN**

Karya Tulis Ilmiah :

**PERBEDAAN Angka Lempeng Total (ALT) DAN *Most Probable Number* (MPN) *Escherichia coli* PADA MINUMAN COKLAT DENGAN ES BATU DAN TANPA ES BATU DI DAERAH JEBRES, MOJOSONGO DAN NUSUKAN**

Oleh:

**Endah Restiana**

**NIM. 33152881J**

Telah Dipertahankan di Depan Tim Penguji  
pada Tanggal 21 Mei 2018

Nama  
Penguji I  
Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.

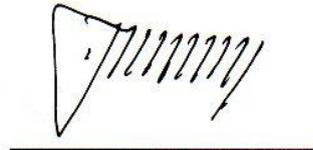
Tanda Tangan



Penguji II  
Tri Mulyowati, SKM., M.Sc



Penguji III  
Rahmat Budi Nugroho, S..Si., M.Sc



Mengetahui,

Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan

Universitas Setia Budi Surakarta



Prof. Dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D.  
NIDN 0029094802

Ketua Program Studi

D-III Analis Kesehatan



Dra. Nur Hidayati, M.Pd.  
NIS. 01198909202067

## **PERSEMBAHAN**

1. Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Ni'mat-Nya sehingga Karya Tulis Ilmiah ini dapat selesai dengan tepat waktu.
2. Kedua Orang tua ku dan kakak ku tercinta yang selalu memberikan kasih sayang, semangat, dorongan, motivasi dan selalu mendoakan ku sehingga dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. Almamaterku Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dosen pembimbing bapak Rahmat Budi Nugroho, S.Si, M.Sc. yang telah meluangkan waktu dan dengan sabar dalam membimbing sehingga dapat terselesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
5. Sahabat-sahabatku yang ikut membantu menyumbang ide dan tenaga serta selalu memberikan semangat dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
6. Teman-teman seperjuanganku DIII Analis Kesehatan Angkatan 2015

## KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul **“Perbedaan Angka Lempeng Total (ALT) DAN *Most Probable Number (MPN) Escherichia coli* pada Minuman Coklat dengan Es Batu dan Tanpa Es Batu di Daerah Jebres, Mojosongo, dan Nusukan”** dengan baik. Karya Tulis Ilmiah ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Ahli Madya Analis Kesehatan untuk Program Studi D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa keberhasilan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini tidak lepas dari dorongan, bimbingan serta partisipasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, M.BA, selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. Marsetyawan HNE Soesatyo, M.Sc., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dra. Nur Hidayati, M.Pd, selaku Ketua Program Studi D-III Analis Kesehatan Universitas setia Budi Surakarta.
4. Rahmat Budi Nugroho, S.Si, M.Sc, selaku dosen pembimbing yang senantiasa membantu dan mengarahkan dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini.

5. Seluruh Dosen dan staf Universitas Setia Budi Surakarta, yang telah memberikan ilmu dan pengalaman untuk bekal dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Kedua Orang tuaku tercinta yang selalu mendoakan dan memberikan semangat serta motivasi.
7. Teman-teman seperjuangan D-III Analis Kesehatan angkatan 2015.
8. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan sehingga terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna maka dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi untuk perbaikan. Penulis berharap semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Surakarta, 23 April 2018

Penulis

## DAFTAR ISI

LEMBAR PERSETUJUAN.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
PERSEMBAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
INTISARI .....	xii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Minuman Coklat.....	5
2.1.1 Klasifikasi Coklat (Kakao).....	5
2.1.2 Definisi Minuman Coklat .....	5
2.2 Es Batu .....	6
2.3 Angka Lempeng Total (ALT) .....	6
2.3.1 Definisi Angka Lempeng Total (ALT) .....	6
2.3.2 Uji Angka Lempeng Total (ALT).....	7
2.3.3 Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT).....	7
2.4 <i>Escherichia coli</i> .....	9
2.3.1 Klasifikasi <i>Escherichia coli</i> .....	9
2.3.2 Definisi <i>Escherichia coli</i> .....	9
2.3.3 Morfologi <i>Escherichia coli</i> .....	10
2.3.4 Sifat-sifat Fisiologis <i>Escherichia coli</i> .....	10
2.3.5 Patogenesis dan Gejala Penyakit .....	11
2.4 Most Probable Number (MPN) <i>Escherichia coli</i> .....	13
BAB III METODE PENELITIAN.....	16
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	16
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	16

3.2.1	Alat .....	16
3.2.2	Bahan .....	16
3.3	Prosedur Kerja .....	17
3.3.1	Pembuatan Media .....	17
3.3.2	Persiapan Pemeriksaan .....	18
3.3.3	Angka Lempeng Total .....	18
3.3.4	Most Probabel Number <i>E.coli</i> .....	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		21
4.1	Hasil Penelitian .....	21
4.1.1	Hasil Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) .....	21
4.1.2	Hasil Uji MPN .....	22
4.2	Analisis Data .....	23
4.3	Pembahasan .....	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....		29
5.1	Kesimpulan .....	29
5.2	Saran .....	29
DAFTAR PUSTAKA .....		P-1
LAMPIRAN .....		L-1

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Escherichia coli</i> .....	10
Gambar 2. Koloni <i>Escherichia coli</i> pada media Agar Darah (BAP) .....	11

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> Pengujian ALT pada Minuman Coklat (dengan es batu) .....	21
<b>Tabel 2.</b> Pengujian ALT pada Minuman Coklat (tanpa Es batu).....	22
<b>Tabel 3.</b> Hasil uji MPN <i>E. coli</i> dengan Es Batu .....	22
<b>Tabel 4.</b> Hasil uji MPN <i>E. coli</i> tanpa Es Batu .....	23
<b>Tabel 5.</b> Uji Normalitas .....	24
<b>Tabel 6.</b> Paired Sampel t Test.....	25

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b>	Sampel Minuman Coklat (dengan Es batu) .....	L-1
<b>Lampiran 2.</b>	Pengenceran .....	L-2
<b>Lampiran 3.</b>	Hasil uji ALT pada Media Nutrien Agar (dengan Es batu) .....	L-3
<b>Lampiran 4.</b>	Hasil MPN <i>Escherichia coli</i> pada Media LB (dengan Es batu) .....	L-8
<b>Lampiran 5.</b>	Hasil MPN <i>Escherichia coli</i> pada Media BGLB (dengan Es batu) .....	L-13
<b>Lampiran 6.</b>	Sampel Minuman Coklat (tanpa Es batu) .....	L-18
<b>Lampiran 7.</b>	Pengenceran (tanpa Es batu) .....	L-19
<b>Lampiran 8.</b>	Hasil uji ALT pada Media Nutrien Agar (tanpa Es batu) ..	L-20
<b>Lampiran 9.</b>	Hasil MPN <i>Escherichia coli</i> pada Media LB (tanpa Es batu) ..	L-25
<b>Lampiran 10.</b>	Hasil MPN <i>Escherichia coli</i> pada Media BGLB (tanpa Es batu) .....	L-30
<b>Lampiran 11.</b>	Tabel MPN.....	L-35
<b>Lampiran 12.</b>	Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) dengan Es Batu ..	L-36
<b>Lampiran 13.</b>	Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) tanpa Es batu ..	L-37
<b>Lampiran 14.</b>	Tabel SPSS Uji Normalitas.....	L-38
<b>Lampiran 15.</b>	Grafik ALT dengan es batu.....	L-38
<b>Lampiran 16.</b>	Grafik MPN dengan es batu.....	L-39
<b>Lampiran 17.</b>	Tabel Uji Paired Sampel Statistik.....	L-39
<b>Lampiran 18.</b>	Tabel Uji Paired Sampel Korelasi.....	L-40
<b>Lampiran 19.</b>	Tabel Uji Paired Sampel t Test.....	L-40
<b>Lampiran 20.</b>	Komposisi Media.....	L-38

## INTISARI

**Restiana, Endah. 2018. *Perbedaan Angka Lempeng Total (ALT) dan Most Probable Number (MPN) Escherichia coli pada Minuman Coklat dengan Es Batu dan Tanpa Es Batu di Daerah Jebres, Mojosongo dan Nusukan.* "Karya Tulis Ilmiah", D-III Analis Kesehatan, Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta.**

Minuman memiliki berbagai jenis, bentuk, rasa dan harga yang bervariasi. Salah satu jenis minuman yang sedang digemari oleh masyarakat adalah minuman coklat. Minuman coklat biasanya disajikan dalam keadaan dingin. Es batu yang digunakan dalam penyajian dapat terkontaminasi oleh bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan Angka Lempeng Total dan MPN *Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta, pada tanggal 21-31 Maret 2018. Penelitian pada 5 sampel minuman coklat dengan es batu dan 5 sampel tanpa es batu, sampel diambil dari daerah Jebres, Mojosongo dan Nusukan. Penelitian menggunakan metode Angka Lempeng Total, dan APM *Escherichia coli*.

Penelitian MPN *Escherichia coli* didapatkan adanya perbedaan yang signifikan, ditandai dengan nilai signifikansi 0,006 yang berarti nilai sig <0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan antara minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu.

**Kata kunci** : Minuman Coklat, es batu, ALT , MPN *Escherichia coli*.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Minuman tidak dapat dipisahkan dari kehidupan manusia karena merupakan salah satu kebutuhan pokok. Minuman memiliki berbagai jenis dari bentuk, rasa dan harganya sangat bervariasi. Salah satu jenis minuman yang sedang digemari masyarakat adalah minuman coklat (Winarti, 2006).

Sekarang ini minuman coklat masih diminati oleh masyarakat, terutama minuman coklat dalam keadaan dingin atau es coklat. Es merupakan pendingin minuman yang berasal dari air yang dibekukan, biasanya es batu digunakan untuk memberikan rasa segar. Es yang dikonsumsi dapat terkontaminasi oleh bakteri. Keberadaan bakteri indikator sanitasi pada es batu menunjukkan rendahnya sanitasi dan dapat menjadi indikasi adanya bakteri patogen (Habib dkk, 2011).

Penyajian minuman coklat biasanya dilakukan tanpa memperhatikan kebersihan seperti pada bahan baku, dan alat-alat yang digunakan dalam proses pembuatan sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi bakteri (Hidayat dkk, 2016). Penggunaan air yang tidak bersih juga merupakan salah satu sumber pencemaran mikroba pada minuman coklat (Sari, 2016).

Angka Lempeng Total (ALT) atau disebut juga dengan *Total Plate Count* (TPC) merupakan metode yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba aerob mesofil per gram atau per milimeter sampel yang ditentukan dengan metode standar. Umumnya Angka Lempeng Total tidak berkaitan dengan bahaya keamanan pangan, namun metode ini bermanfaat untuk

menunjukkan kualitas, masa simpan dan higiens pada saat poduksi (SNI, 2009).

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang hidup dalam usus manusia. Keberadaannya di luar tubuh manusia dapat menjadi indikator sanitasi suatu produk, apakah pernah terkontaminasi kotoran manusia atau tidak. *Escherichia coli* terdapat dalam jumlah besar pada feses manusia dan hewan (Julia dkk, 2017). *Escherichia coli* termasuk dalam famillia Enterobacteriaceae yang tumbuh dengan baik di hampir semua media dan dapat memfermentasi laktosa (Radji, 2010).

Hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Hidayat (2016) tentang Uji Bakteriologis Jajanan Minuman di Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Padang Timur dari 6 sampel didapatkan hasil positif teridentifikasi bakteri *Escherichia coli* dan minuman tersebut tidak layak dikonsumsi menurut standar Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM) (Hidayat dkk, 2016).

Berdasarkan hasil observasi yang telah dilakukan pada beberapa penjual minuman coklat, kondisi tempat penjualan tidak terjaga sanitasinya. Banyak penjual yang berada di pinggir jalan dan juga ada beberapa penjual yang berada di pinggir selokan. Alat yang digunakan pada penyajian minuman coklat juga dapat menjadi sumber kontaminasi, seperti pada penggunaan alat-alat yang kurang terjaga kebersihannya. Pengambilan sampel minuman coklat dilakukan di lima tempat penjual minuman coklat di Daerah Jebres, Mojosongo, dan Nusukan.

Berdasarkan uraian diatas penulis ingin mengetahui apakah terdapat perbedaan hasil uji Angka Lempeng Total (ALT) dan MPN

*Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu di Daerah Jebres, Mojosongo dan Nusukan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

1. Apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai Angka Lempeng Total (ALT) pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa?
2. Apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil uji MPN *Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai Angka Lempeng Total (ALT) pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu.
2. Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang signifikan antara hasil uji MPN *Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### a. Bagi Penulis

Mengembangkan ketrampilan dalam penelitian serta menambah wawasan dan pengetahuan dalam memilih jajanan minuman coklat.

### b. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi mengenai kualitas minuman coklat yang beredar di masyarakat khususnya di Daerah Jebres, Mojosongo dan Nusukan.

**c. Bagi Institusi**

Sebagai referensi penelitian selanjutnya dan sebagai sumber bacaan dan sumber informasi bagi mahasiswa.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Minuman Coklat**

##### **2.1.1 Klasifikasi Coklat (Kakao)**

Tanaman coklat (Kakao) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Devisi : Spermatophyta

Sub Devisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Sub Kelas : Dialypetalae

Bangsa : Malvales

Familia : Sterculiaceae

Marga : Theobroma

Jenis : *Theobroma cacao* (Rukmana dkk, 2016)

##### **2.1.2 Definisi Minuman Coklat**

Coklat merupakan suatu hasil olahan dari biji tanaman kakao (*Theobroma cacao*) yang tumbuh pertama kali di hutan hujan di Amerika Selatan dan Amerika Tengah (Morganelli, 2006). Coklat merupakan sebutan untuk makanan atau minuman yang berasal dari olahan biji kakao. Komposisi bahan dari olahan coklat yaitu pasta coklat, gula, lemak kakao, dan beberapa tambahan cita rasa (Retnoningsih, 2015).

Minuman merupakan segala sesuatu yang dapat dikonsumsi dan dapat menghilangkan rasa haus atau dahaga. Pada umumnya minuman berbentuk cair tetapi ada juga yang berbentuk padat seperti es krim dan es lilin (Winarti, 2006).

## **2.2 Es Batu**

Es batu merupakan pendingin minuman yang berasal dari air yang telah dibekukan, biasanya es batu digunakan untuk memberikan rasa segar. Pembekuan terjadi apabila air didinginkan pada suhu dibawah 0°C. Pembekuan didasarkan pada prinsip air yang disimpan pada suhu yang sangat rendah, sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dan menghambat aktifitas enzim. Jenis es yang biasa digunakan adalah es balok dan es kristal. Es balok biasanya digunakan untuk pengawetan hasil laut dan juga digunakan sebagai pendingin minuman kemasan. Es kristal lebih banyak digunakan untuk pembuatan minuman karena es kristal lebih bersih, jernih dan tidak perlu dipecahkan lagi (Saraswati dkk, 2011).

## **2.3 Angka Lempeng Total (ALT)**

### **2.3.1 Definisi Angka Lempeng Total (ALT)**

ALT (Angka Lempeng Total) atau disebut juga *Total Plate Count* (TPC) merupakan metode yang digunakan untuk menghitung jumlah mikroba aerob mesofil, angka bakteri aerob mesofilik per gram atau per mililiter sampel yang ditentukan dengan metode standar (SNI, 2009).

Angka Lempeng Total (ALT) menunjukkan jumlah mikroba yang terdapat dalam suatu produk dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri

yang ditumbuhkan pada media agar. Bakteri aerob mesofil dapat tumbuh setelah sampel diinkubasi dalam pembenihan yang cocok yaitu pada suhu 37 °C selama 24 sampai 48 jam (Pollack dkk, 2016).

Beberapa negara menyebut Angka Lempeng Total (ALT) dengan sebutan *Aerobic Plate Count (APC)*, *Standard Plate Count (SPC)* atau *Aerobic Microbial Count (AMC)*. Secara umum metode Angka Lempeng Total (ALT) tidak berkaitan dengan bahaya keamanan pangan namun metode ini bermanfaat untuk menunjukkan kualitas, masa simpan, serta higiens pada saat proses produksi (SNI, 2009).

### **2.3.2 Uji Angka Lempeng Total (ALT)**

Uji Angka Lempeng Total (ALT) digunakan untuk mengetahui jumlah bakteri mesofil dengan menggunakan media padat dengan hasil koloni yang dapat diamati secara visual dan dihitung dengan interpretasi hasil berupa angka dalam koloni (cfu) ml/gram atau koloni/100ml (BPOM, 2008).

Bahan pemeriksaan yang digunakan harus diencerkan terlebih dahulu untuk menghindari jumlah koloni yang terlalu banyak sehingga koloni dapat dihitung. Hasil perhitungan yang dapat diambil yaitu diantara 30 dan 300 koloni pada setiap lempeng pembiakan (Irianto, 2013).

### **2.3.3 Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT)**

Untuk melaporkan suatu hasil analisa mikrobiologi digunakan standar yang disebut *Standard Plate Count (SPC)*. Standar ini menjelaskan mengenai cara untuk menghitung koloni pada cawan petri dan cara untuk memilih data yang akan diambil. Cara menghitung koloni pada cawan petri yaitu sebagai berikut :

- a. Dipilih cawan petri dari pengenceran yang menunjukkan jumlah koloni antara 30 dan 300 koloni. Jumlah koloni rata-rata yang dihitung kemudian dikalikan dengan faktor pengencernya.
- b. Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu berupa kumpulan koloni besar dan apabila jumlah koloni diragukan maka koloni tersebut dapat dihitung sebagai satu koloni.
- c. Koloni membentuk deretan (rantai) yang terlihat seperti suatu garis tebal maka dihitung sebagai satu koloni (Irianto,2013).

Data yang dapat dilaporkan sebagai *Standard Plate Count* (SPC) harus mengikuti persyaratan sebagai berikut :

- a. Hasil yang dilaporkan hanya terdiri dari dua angka dan berupa angka desimal yaitu dengan angka pertama berada di depan koma dan angka ke dua berada di belakang koma. Apabila angka ketiga lebih besar atau sama dengan 5 maka pada angka kedua harus dibulatkan satu angka lebih tinggi.
- b. Jika semua pengenceran menghasilkan angka kurang dari 30 koloni maka hanya jumlah koloni pada pengenceran terendah yang dihitung. Hasil yang diperoleh dilaporkan sebagai kurang dari 30 dikalikan dengan besarnya pengenceran, tetapi jumlah koloni yang sebenarnya harus dicantumkan dalam tanda kurung.
- c. Jika semua pengenceran menghasilkan jumlah lebih dari 300 koloni pada cawan petri, maka hanya jumlah koloni pada pengenceran tertinggi yang dihitung. Hasil dilaporkan sebagai lebih dari 300 kemudian dikalikan dengan besar pengencerannya tetapi jumlah yang sebenarnya harus tetap dicantumkan dalam tanda kurung.

- d. Jika cawan petri dari dua tingkat pengenceran menghasilkan koloni dengan jumlah antara 30 dan 300 dan perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah dari kedua pengenceran tersebut lebih kecil atau sama dengan 2, maka ditentukan rata-rata dari kedua nilai tersebut dengan memperhitungkan pengencerannya. Tetapi jika perbandingan antara hasil tertinggi dan terendah lebih besar dari dua, maka yang dilaporkan hanya hasil yang terkecil.
- e. Jika digunakan dua cawan petri (*duplo*) per pengenceran, maka data yang diambil harus dari kedua cawan tersebut tidak dari salah satu cawan meskipun salah satu dari cawan duplo tersebut tidak memenuhi syarat antara 30 dan 300 (Irianto, 2013).

## **2.4 *Escherichia coli***

### **2.3.1 Klasifikasi *Escherichia coli***

Kingdom	: Bakteria
Fillum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Familly	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i> (Kuswiyanto, 2016).

### **2.3.2 Definisi *Escherichia coli***

*Escherichia coli* merupakan flora normal yang terdapat dalam usus yang mampu menghasilkan vitamin K dalam usus dan merupakan bakteri dalam famili Enterobacteriaceae yang paling sering dijumpai.

Bakteri ini mempunyai kemampuan untuk menyebabkan infeksi pada jaringan tubuh lain (Kuswiyanto, 2016).

*Escherichia coli* merupakan bakteri yang banyak digunakan sebagai indikator sanitasi. Umumnya *Escherichia coli* bukan merupakan patogen penyebab penyakit sehingga pengujiannya tidak membahayakan bagi peneliti. Keberadaan *Escherichia coli* dalam air atau makanan memiliki korelasi tinggi. Adanya *Escherichia coli* dalam air minum menunjukkan bahwa air tersebut telah terkontaminasi kotoran manusia dan mengandung patogen usus. (Kuswiyanto, 2016).

### 2.3.3 Morfologi *Escherichia coli*

*Escherichia coli* umumnya merupakan bakteri pathogen yang dapat ditemukan pada saluran pencernaan manusia. Morfologi *Escherichia coli* adalah berbentuk batang lurus, tidak berspora, Gram negatif, ukuran 0,4-0,7  $\mu\text{m}$  x 1,4  $\mu\text{m}$ , sebagian dapat bergerak aktif menggunakan flagel peritrik dan beberapa strain mempunyai kapsul (Kuswiyanto, 2016).

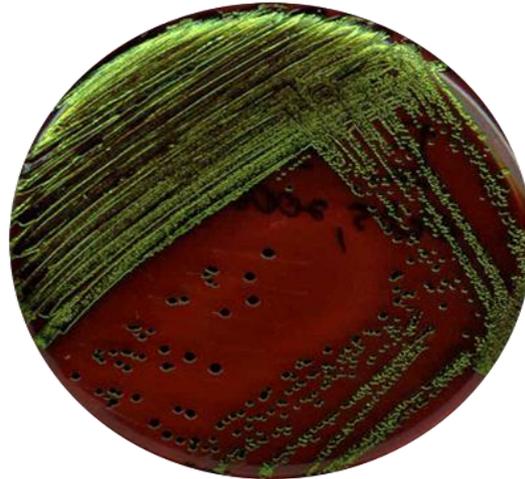


**Gambar 1.** *Escherichia coli* (Biocote, 2016)

### 2.3.4 Sifat-sifat Fisiologis *Escherichia coli*

*Escherichia coli* tumbuh pada media dengan pH 7,2 dan dapat tumbuh pada suhu 10-40°C. *Escherichia coli* mampu mengurai glukosa

menjadi asam dan gas dan memfermentasi laktosa dan manitol. Beberapa jenis *Escherichia coli* dapat menghemolisis darah dan tumbuh pada suasana aerob atau anaerob (Kuswiyanto, 2016).



**Gambar 2.** Koloni *Escherichia coli* pada media Agar Darah (BAP) (Yulisman, 2015)

### 2.3.5 Patogenesis dan Gejala Penyakit

*Escherichia coli* merupakan penyebab infeksi pada manusia, seperti infeksi saluran kemih, infeksi meningitis pada neonatus, dan infeksi usus. Infeksi *Escherichia coli* biasanya berupa diare yang disertai dengan darah, kejang perut, demam, dan juga dapat menyebabkan gangguan pada organ ginjal. Penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Escherichia coli* dapat ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak, daging yang telah terkontaminasi dan dapat terjadi pada tempat yang memiliki sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih (Radji, 2010).

Patogenesis infeksi *Escherichia coli* yaitu sebagai berikut:

- a. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

Bakteri ini merupakan penyebab diare yang paling penting pada bayi terutama di negara berkembang. Mekanisme pada jenis ini yaitu dengan cara melekatkan diri pada sel mukosa usus kecil dan membentuk *filamentous actin pedestal* sehingga menyebabkan diare cair (*watery diarrhea*). Diare ini dapat sembuh dengan sendirinya atau berlanjut menjadi kronis. Diare seperti ini dapat disembuhkan dengan pemberian antibiotik.

b. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Bakteri ini juga merupakan penyebab diare pada bayi, berbeda dengan EPEC *Escherichia coli* jenis ini memproduksi beberapa jenis eksotoksin yang tahan maupun tidak tahan panas dibawah kontrol genetik plasmid. Enterotoksin ini bekerja dengan merangsang sel epitel usus untuk mensekresi cairan sehingga terjadi diare,

c. *Enterohaemoregic Escherichia coli* (EHEC) dan Galur yang Memproduksi Verotoksin (VTEC)

VTEC menyebabkan sejumlah kejadian luar biasa (KLB) diare dan kolitis hemoragik. Penyakit ini bersifat akut dan dapat sembuh spontan, biasanya ditandai dengan nyeri abdomen diare disertai darah. Gejala ini merupakan komplikasi dari diare ringan.

d. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

Bakteri ini menyebabkan penyakit yang hampir sama dengan penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Shigella sp.* Bakteri ini menimbulkan penyakit karena mempunyai kemampuan dalam menginvasi sel epitel mukosa usus.

e. *Enteroaggregative Escherichia coli*

Bakteri ini menyebabkan diare akut dan kronik pada penduduk di negara berkembang (Kuswiyanto, 2016).

#### 2.4 Most Probable Number (MPN) *Escherichia coli*

MPN merupakan sebuah pendekatan statistik yang digunakan untuk mengidentifikasi kontaminasi koliform pada sampel air. Koliform adalah nama umum yang digunakan untuk bakteri Intestinal terutama untuk bakteri *Escherichia coli*. *Escherichia coli* merupakan bakteri yang biasa digunakan sebagai indikator kontaminasi feces di dalam air (Pollack dkk, 2016).

Prinsip metode MPN yaitu menggunakan media cair *Lactosa Broth* di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif yaitu yang ditumbuhi oleh mikroba setelah diinkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan dan terbentuknya gas pada tabung Durham (Irianto, 2013).

Most Probable Number (MPN) terdiri dari uji penduga dan uji konfirmasi (peneguhan), dengan menggunakan media cair *Lactosa Broth* (LB) di dalam tabung reaksi yang berisi tabung Durham terbalik dan dilakukan berdasarkan jumlah tabung positif. Pengamatan tabung positif dapat dilihat dengan timbulnya gas dan kekeruhan yang berada pada tabung Durham (SNI, 2009).

Most Probable Number (MPN) merupakan suatu prosedur yang melibatkan tiga tahapan, yaitu :

a. Uji Penduga

Uji dugaan merupakan uji yang pertama kali dilakukan, uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah sampel terkontaminasi oleh feses (Pollack dkk, 2016). Dalam uji penduga digunakan media *Lactosa Broth* (LB). Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 24 jam, dan dinyatakan positif jika terbentuk gas sebanyak 10 % atau lebih dari volume di dalam tabung Durham. Tabung yang tidak menunjukkan terbentuknya gas maka diperpanjang waktu inkubasinya yaitu selama 48 jam. Jika tetap tidak terbentuk gas maka dihitung sebagai hasil yang negatif (Irianto, 2013).

b. Uji Penguat (Uji konfirmasi)

Uji konfirmasi merupakan uji kedua yang dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya bakteri koliform di dalam sampel dengan menggunakan media biakan *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLB), (Pollack dkk, 2016). Inkubasi dilakukan pada suhu 44°C selama 24 jam untuk mengetahui adanya bakteri koliform fekal (*Escherichia coli*), dan dinyatakan positif apabila terbentuk gas sebanyak 10 % atau lebih dari volume di dalam tabung Durham. Tabung yang tidak menunjukkan terbentuknya gas maka diperpanjang waktu inkubasinya yaitu selama 48 jam. Jika tetap tidak terbentuk gas maka dihitung sebagai hasil yang negatif

c. Uji Pelengkap

Terbentuknya gas pada media *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* (BGLB) menunjukkan hasil yang positif, oleh karena itu perlu

dilakukan uji pada media Endo Agar. Inokulasi dilakukan dengan menggunakan jarum ose. Tabung MPN yang menunjukkan hasil positif diinokulasikan 1-2 ose pada cawan Endo Agar, kemudian diinkubasi pada suhu 37<sup>0</sup> C selama 24 jam. Pertumbuhan koloni pada media Endo Agar kemudian dilakukan identifikasi menggunakan uji Biokimia (Nuria, 2009).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta, pada tanggal 21-31 Maret 2018.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain :

- a. Tabung reaksi
- b. Rak tabung reaksi,
- c. Tabung Durham,
- d. Cawan petri,
- e. Jarum ose,
- f. *Inkubator*,
- g. Spuit 1ml,
- h. Spuit 3 ml,
- i. Spuit 10 ml,
- j. Lampu spirtus,
- k. *Autoclave*
- l. *Beaker glass*.

##### **3.2.2 Bahan**

- a. Jenis sampel

Sampel minuman coklat yang diambil dari 5 penjual yang berada di Kota Solo dengan kode A, B, C, D, dan E.

b. Media

Media yang digunakan diantaranya *Nutrien Agar*, *Lactosa Broth*, *Brilliant Green Bile Broth* dan Aquadest steril.

### 3.3 Prosedur Kerja

#### 3.3.1 Pembuatan Media

a. **Media *Nutrien Agar* (NA)**

1. Ditimbang 6 gr media NA kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 ml.
2. Ditambahkan *aquadest* sebanyak 300 ml
3. Bahan dipanaskan dengan *stering hotplate* sampai mendidih
4. Setelah dipanaskan dan larut media dibagi ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 ml lalu ditutup dengan kapas.
5. Disterilisasi dengan *Autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. **Media *Lactose Broth* (LB)**

1. Ditimbang sebanyak 8,19 gr media *Lactose Broth* kemudian dimasukkan ke dalam *beaker glass* 1000 ml.
2. Ditambahkan *aquadest* sebanyak 630 ml.
3. Dipanaskan dengan menggunakan *stering hotplate* sampai larut.
4. Setelah larut dimasukkan ke dalam tabung reaksi kecil, besar dan sedang yang berisi tabung Durham terbalik masing-masing sebanyak 7 ml atau sampai tabung Durham tenggelam.
5. Lalu ditutup dengan kapas dan diikat dengan karet
6. Disterilisasi dengan *Autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

**c. Media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)**

1. Ditimbang sebanyak 21,6 gr media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB) kemudia dimasukan ke dalam *beaker glass* 1000 ml.
2. Ditambahkan *aquadest* sebanyak 540 ml.
3. Dipanaskan dengan menggunakan *stering hotplate* sampai larut.
4. Setelah larut dimasukan ke dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham terbalik masing-masing sebanyak 6 ml atay sampai tabung Durham tenggelam.
5. Lalu ditutup dengan kapas dan diikat dengan karet
6. Media disterilisasi dengan *Autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit.

**3.3.2 Persiapan Pemeriksaan**

Pengenceran bertingkat dibuat dengan cara sebagai berikut :

- a. Disiapkan tabung reaksi dengan masing-masing diberi label  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ , dengan masing-masing tabung diisi 9 ml *aquadest* steril.
- b. Dipipet 1 ml sampel dan dimasukan ke dalam tabung pengenceran yang berlabel  $10^{-1}$ , kemudian diambil 1 ml dengan pipet ukur steril dan dimasukan ke dalam tabung pengencer  $10^{-2}$  kemudian diambil 1 ml dari pengencer  $10^{-2}$ .

**3.3.3 Angka Lempeng Total**

- a. Dipipet sebanyak 1 ml sampel dari masing-masing pengenceran dan kemudian dimasukan kedalam cawan petri steril secara aseptis.
- b. Dituangkan media *Nutrien Agar (NA)* yang sudah didinginkan hingga suhu 45°C pada masing-masing cawan petri yang telah berisi sampel.

- c. Dihomogenkan dengan cara memutar cawan petri kedepan dan ke belakang atau membentuk angka delapan.
- d. Didiamkan sampai menjadi padat
- e. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### **3.3.4 Most Probabel Number *E.coli***

##### **a. Uji Penduga**

1. Diipipet masing-masing 10 ml, 1 ml, 0,1 ml sampel dengan menggunakan pipet ukur steril, kemudian dimasukkan ke dalam 3 seri tabung *Lactosa Broth (LB)* yang berisi tabung Durham terbalik.
2. Tabung-tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam.
3. Hasil uji dinyatakan positif apabila terjadi kekeruhan dan terbentuknya gas pada tabung Durham.

##### **b. Uji Konfirmasi**

1. Setiap tabung *Lactosa Broth* pada uji penduga yang positif dipindahkan 1-2 ose ke dalam tabung yang berisi media *Brilliant Green Bile Broth (BGLB)* yang didalamnya terdapat tabung Durham terbalik.
2. Untuk bakteri *E.coli* diinkubasi pada suhu 44° C selama 24-48 jam
3. Hasil dinyatakan positif apabila terjadi kekeruhan dan terbentuk gas dalam tabung Durham terbalik.

4. Banyaknya kandungan bakteri *E.coli* dapat dilihat dengan menghitung tabung yang positif pada media BGLB dan kemudian dibandingkan dengan tabel MPN.

**c. Uji Pelengkap**

1. Diinokulasikan 1-2 ose dari setiap tabung BGLB positif pada media *Endo Agar* dalam cawan petri
2. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam
3. Diamati adanya koloni spesifik dan lakukan identifikasi (uji biokimia) serta pewarnaan Gram (Nuria dkk, 2009).

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

##### 4.1.1 Hasil Pengujian Angka Lempeng Total (ALT)

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) digunakan untuk mengetahui jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Nutrien Agar* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam pada sampel minuman coklat yang diambil dari daerah Kota Solo dengan hasil :

**Tabel 1.** Pengujian ALT pada Minuman Coklat (dengan es batu)

Sampel	Pengenceran	Petri I	Petri II	Jumlah rata-rata	Hasil
A	10 <sup>0</sup>	248	252	230	3,0 x 10 <sup>3</sup> Koloni/g
	10 <sup>-1</sup>	123	168	145,5	
	10 <sup>-2</sup>	89	57	73	
B	10 <sup>0</sup>	>300	>300	>300	1,5 x 10 <sup>3</sup> Koloni/g
	10 <sup>-1</sup>	132	162	147	
	10 <sup>-2</sup>	59	40	49,5	
C	10 <sup>0</sup>	162	268	215	1,5x 10 <sup>3</sup> Koloni/g
	10 <sup>-1</sup>	51	102	76,5	
	10 <sup>-2</sup>	36	36	36	
D	10 <sup>0</sup>	64	63	63,5	6,4 x 10 <sup>1</sup> Koloni/g
	10 <sup>-1</sup>	36	32	34	
	10 <sup>-2</sup>	7	10	8,5	
E	10 <sup>0</sup>	290	286	288	2,9 x 10 <sup>2</sup> Koloni/g
	10 <sup>-1</sup>	79	103	91	
	10 <sup>-2</sup>	27	29	28,5	

**Tabel 2.** Pengujian ALT pada Minuman Coklat (tanpa Es batu)

Sampel	Pengenceran	Petri I	Petri II	Jumlah rata-rata	Hasil
A	$10^0$	104	156	130	$1,3 \times 10^2$ Koloni/g
	$10^{-1}$	69	76	72,5	
	$10^{-2}$	16	20	18	
B	$10^0$	22	16	19	$<3,0 \times 10^1$ ( $1,9 \times 10^1$ ) Koloni/ g
	$10^{-1}$	16	13	14,5	
	$10^{-2}$	4	3	3,5	
C	$10^0$	124	81	102,5	$1,0 \times 10^2$ Koloni/g
	$10^{-1}$	41	44	42,5	
	$10^{-2}$	22	14	18	
D	$10^0$	34	72	53	$5,3 \times 10^1$ Koloni/g
	$10^{-1}$	12	23	17,5	
	$10^{-2}$	7	5	6	
E	$10^0$	16	24	20	$<3,0 \times 10^1$ ( $2,0 \times 10^1$ ) Koloni/g
	$10^{-1}$	6	14	10	
	$10^{-2}$	3	7	5	

#### 4.1.2 Hasil Uji MPN

**Tabel 3.** Hasil uji MPN *E. coli* dengan Es Batu

Sampel	LB			BGLB			MPN/g
	10ml	1 ml	0,1ml	10 ml	1 ml	0,1ml	
A	3	3	2	3	2	2	210
B	3	2	1	3	1	1	75
C	3	3	2	3	2	2	210
D	3	3	2	3	2	0	93
E	3	3	2	3	2	1	150

**Tabel 4.** Hasil uji MPN *E. coli* tanpa Es Batu

Sampel	LB			BGLB			MPN/g
	10ml	1 ml	0,1ml	10 ml	1 ml	0,1ml	
A	3	2	2	3	1	0	43
B	3	2	1	2	2	0	21
C	3	3	2	3	1	1	75
D	3	2	2	2	2	0	21
E	3	3	2	2	2	1	28

#### 4.2 Analisis Data

Analisis data diperlukan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antara hasil uji Angka Lempeng Total (ALT) dan MPN *Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu. Data tersebut akan dilakukan uji Paired Sampel t Test. Syarat untuk melakukan uji perbedaan dengan uji Paired Sampel t Test adalah data yang diuji harus terdistribusi normal, sehingga perlu dilakukan uji Normalitas data menggunakan uji normalitas. Uji normalitas yang digunakan adalah Shapiro-Walk karena sampel uji yang digunakan kurang dari 50 sampel. Dari hasil perhitungan menggunakan aplikasi komputer IBM SPSS ver 17, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

Tabel 5. Uji Normalitas

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
ALT_DENGAN_ES	.913	5	.485
ALT_TANPA_ES	.890	5	.358
MPN_DENGAN_ES	.867	5	.256
MPN_TANPA_ES	.820	5	.116

Sumber : data primer yang diolah

Ketentuan :

- a. Jika nilai signifikansi  $>0,05$  maka data terdistribusi normal
- b. Jika nilai signifikasnsi  $<0,05$  maka data terdistribusi tidak normal

Dari data pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dan MPN *Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu didapatkan nilai signifikansi 0,485 untuk Angka Lempeng Total dengan es batu dan 0,358 untuk sampel tanpa es batu. Nilai signifikansi 0,256 untuk MPN dengan es batu dan 0,116 untuk sampel tanpa es batu. Keempatnya menunjukkan signifikansi  $>0,05$ , maka dapat disimpulkan bahwa data pengujian minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu terdistribusi normal, oleh karena itu dapat dilakukan uji perbedaan dengan uji Paired Sampel t Test menggunakan aplikasi IBM SPSS ver 17. Didapatkan hasil:

**Tabel 6. Paired Sampel t Test**

		Paired Differences	T	df	Sig (2-tailed)
		95% Confidence Interval of the Differences			
		Upper			
Pair 1	ALT DENGAN ES - ALT TANPA ES	2620.24551	2.369	4	.077
Pair 2	MPN DENGAN ES - MPN TANPA ES	167.56690	5.305	4	.006

Sumber : data primer yang diolah

Ketentuan :

- a. Jika nilai signifikansi  $> 0,05$  maka tidak dapat perbedaan
- b. Jika nilai signifikansi  $< 0,05$  maka terdapat perbedaan

Hasil dari tabel tersebut diketahui bahwa nilai signifikansi untuk Angka Lempeng Total (ALT) adalah 0,077 yang berarti nilai sig  $> 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan hasil uji Angka Lempeng Total (ALT) pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu. Nilai signifikansi untuk MPN *Escherichia coli* adalah 0,006 yang berarti nilai sig  $< 0,05$  sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan hasil uji MPN *Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu.

### 4.3 Pembahasan

Penelitian terhadap minuman coklat dilakukan dua kali (duplo) menggunakan 5 sampel dengan tambahan es batu dan 5 sampel tanpa penambahan es batu. Perbandingan minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu dilakukan dengan metode Angka Lempeng Total (ALT) dan MPN *Escherichia coli*.

Angka Lempeng Total (ALT) merupakan indikator umum yang menggambarkan kontaminasi makanan atau minuman. Kontaminasi suatu produk makanan atau minuman dapat disebabkan karena pedagang kurang memperhatikan kebersihan pada saat proses pembuatan suatu produk. Sama halnya seperti penelitian yang telah dilakukan oleh Fauzi, yang menyatakan bahwa para pedagang jarang membersihkan gerobak yang digunakan untuk proses pengolahan dan tempat penjualan yang terletak dipinggiran jalan, sehingga mudah terpapar oleh debu dan mikroba yang ada di udara. Kontaminasi mikroba juga dapat disebabkan karena kurang terjaganya kebersihan wadah serbuk coklat yang jarang dibersihkan atau diganti (Fauzi dkk, 2017).

Berdasarkan hasil Uji Paired Sampel t Test hasil penelitian minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu dengan metode Angka Lempeng Total (ALT) menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna. Hasil penelitian dengan metode MPN *Escherichia coli* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna. Sebelum dilakukan uji Paired Sampel t Test, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas. Uji normalitas yang digunakan adalah Shapiro-Walk, hal ini dikarenakan sampel yang digunakan kurang dari 50 sampel.

Perbedaan tersebut dapat terjadi karena adanya faktor-faktor yang dapat mempengaruhi kontaminasi mikroba. Faktor-faktor tersebut meliputi kurang diperhatikannya tingkat kebersihan dalam pembuatan es, baik dari air yang digunakan sebagai bahan membuat es, wadah atau tempat untuk membuat es. Sebaiknya air yang akan digunakan dipanaskan terlebih dahulu sehingga dapat meminimalisasi bakteri atau mikroorganisme lain yang terdapat di air. Lingkungan pembuatan es juga mempengaruhi tingkat kebersihan dan cemaran bakteri di air atau es. Kurangnya kesadaran, pengetahuan, dan disiplin manusia dalam memperhatikan kebersihan (Habib dkk, 2011).

Penggunaan air yang tidak bersih atau kualitas air yang rendah juga merupakan salah satu sumber pencemaran mikroba pada minuman coklat, lingkungan tempat penjualan minuman coklat juga dapat mempengaruhi cemaran mikroba, mungkin berasal dari udara ataupun debu yang ada disekitar tempat penjualan.

Penjual yang tidak memperhatikan sanitasi dan hygiene sangat mempengaruhi terjadinya pencemaran mikroorganisme pada minuman coklat. Saat pembuatan minuman coklat penjual menggunakan tangan yang tidak bersih atau tidak mencuci tangan sebelum melakukan pengolahan. Penggunaan alat produksi yang tidak bersih juga merupakan penyebab kontaminasi mikroorganisme, seperti penggunaan wadah, blender, sendok yang tidak bersih atau tidak dicuci dengan benar dapat menyebabkan terjadinya cemaran mikroba (Sari, 2016).

Kontaminasi bakteri *Escherichia coli* juga dapat disebabkan karena penyimpanan bahan baku yang tidak dalam keadaan tertutup serta lokasi penjualan yang berada di pinggir jalan yang mudah tercemar oleh asap kendaraan ataupun debu. Sama halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh Santi, bahwa peralatan yang digunakan tidak dalam keadaan bersih dan termos yang digunakan untuk tempat es juga jarang dibersihkan begitu juga dengan sendok yang digunakan untuk mengambil es batu (Santi dkk, 2013).

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu menggunakan metode Angka Lempeng Total dan MPN *Escherichia coli* dapat disimpulkan:

- a. Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai Angka Lempeng Total (ALT) pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu.
- b. Terdapat perbedaan yang signifikan antara nilai MPN *Escherichia coli* pada minuman coklat dengan es batu dan tanpa es batu.

#### 5.2 Saran

- a. Untuk Masyarakat
  1. Sebaiknya penjual lebih meningkatkan kebersihan baik pada peralatan ataupun pada proses pengolahan, sehingga minuman coklat yang dihasilkan tidak tercemar oleh mikroba.
  2. Seharusnya penjual lebih memperhatikan tempat produksi atau tempat berjualan minuman coklat yaitu sanitasi dan hygenitas, serta bahan-bahan yang digunakan.
  3. Menjaga kesehatan dan kebersihan diri saat bejualan sehingga tidak menjadi sumber kontaminasi minuman coklat yang dijual.
  4. Bagi konsumen harus lebih cermat dalam memilih jajanan minuman yang bersih dan sehat.

5. Lebih memperhatikan kebersihan tempat penjualan sebelum membeli.

b. Untuk institusi

Penulis berharap adanya penelitian lain yang lebih mendalam, seperti sampel yang diteliti langsung menggunakan bubuk coklat. Selain itu juga dapat dilakukan penelitian ke tahap yang lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alviro, R. 2015. "Cara Membuat Minuman Coklat" (Online), (<https://googleweblight.com/>, diakses 05 Desember 2017)
- Badan Pengawas Obat dan Makanan 1829-9334. 2008. *Pengujian Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: BPOM RI
- Biocote. 2016. "Five Facts About E. coli" (Online), (<https://www.biocote.com/blog/five-facts-e-coli/>, diakses 05 Desember 2017)
- Fauzi, M.M. Rahmawati. Linda, R. 2017. "Cemaran Mikroba Berdasarkan Angka Lempeng Total dalam Angka Paling Mungkin Koliform pada Minuma Air Tebu (*Saccharum officinarum*) di Kota Pontianak". *Jurnal Protobiont*, 6 (2) : 8-15
- Habib, I. Rahmaniar, A.S. 2011. "Perbandingan Kualitas Es batu di Warung Makan dengan Restoran di DIY dengan Indikator Jumlah Bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* Terlarut", (Online), (<http://media.neliti.com/media/publication/153974/>, diakses 15 Mei 2018)
- Hidayat, Y. Indriyati, G. Yani, P.A. 2016. " Uji Bakteriologis Jajanan Minuman di Sekolah Dasar Negeri Kecamatan Padang Timur", (Online), (<http://stkip-pgri-sumbar.ac.id/jurnal/2436/>, diakses 03 Desember 2017)
- Irianto, K. 2013. *Mikrobiologi Medis*. Bandung: Alfabeta
- Julia, P. Latumeten, C.N. dan Sauisa, V.G. 2017. "Analisis Cemaran *Escherichia coli* pada Jajanan Gorengan dan Minuman Olahan di depan Kampus Universitas Kristen Indonesia Maluku (UKIM) Ambon". *Jurnal Kesehatan*, Vol VII (2): 149-156
- Kuswiyanto. 2016. *Bakteriologi 2: Buku Ajar Analisis Kesehatan*. Jakarta: EGC
- Morganelli, A. 2006. "Biography of Chocolate", (Online), ([http://books.google.co.id/books/about/The\\_Biography\\_of\\_Chocolate.html](http://books.google.co.id/books/about/The_Biography_of_Chocolate.html), diakses 14 November 2017)
- Nuria, C.M. Sumantri. Rosyid, A. 2009. "Uji Kandungan Bakteri *Escherichia coli* pada Air Minum Isi Ulang Depot Air Minum Isi Ulang di Kabupaten Rembang". *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*, 5 (1): 27-35.
- Pollack, A.R . Findlay, L. Mondschein, W. Dan Modesto, R, R. 2016. *Mikrobiologi Praktik Laboratorium*. Jakarta: EGC

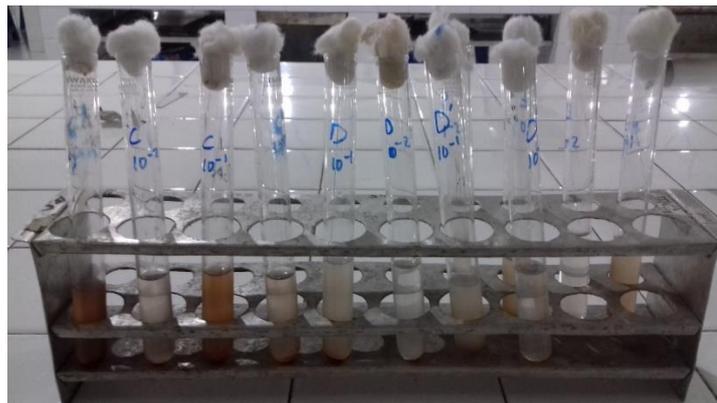
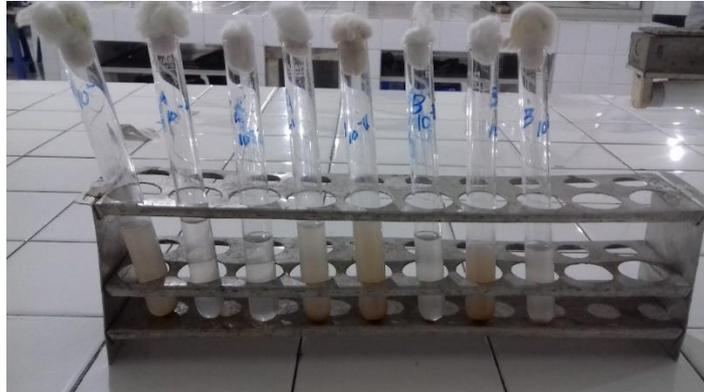
- Radji, M. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi: Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Retnoningsih, F. 2015. "Pemilihan Prioritas Strategi Pemasaran Coklat Olahan Berdasarkan Metode *Analytical Hierarchy Process*". Skripsi. Denpasar: Fakultas Pertanian, Universitas Udayana
- Rukmana, R dan Yudirachman, H. 2016. *Untung Selangit dari Agribisnis Kakao*. Yogyakarta: Lily Publisher
- Santi, N.D. Purba, B.R.K, Ashar, T. 2013. "Analisis Higiene Sanitasi Pengolahan dan Pemeriksaan Balkteri *E.coli* pada Minuman Kelapa Muda yang dijual di Kelurahan Lauchi Kecamatan Medan Tuntungan Medan", (Online), (<http://media.neliti.com/media/publication/14511-ID-analisis-higiene-sanitasi-pengolahan-dan-pemeriksaan-bakteri-e-coli-pada-minuman/> diakses 02 April 2018)
- Saraswati, M.A. Elfidasari, D. Nufadianti, G. Samiah, R. Setiowati, V. 2011. "Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran *Fast Food* di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah *Escherichia coli* Terlarut". *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 1(1) : 18-23.
- Sari, P.R. 2016. "Analisis Kuantitatif Bakteri *Escherichia coli* pada Air Minum Isi Ulang di Wilayah Sungai Besar Kota Banjarbaru". *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 1 (1) : 26-35.
- Standar Nasional Indonesia 7388. 2009. "Batas Cemaran Mikroba dalam Pangan". Jakarta: Dewan Standarisasi Nasional
- Standar Nasional Indonesia 7934. 2014. "Coklat dan Produk-produk Coklat". Jakarta: Badan Standarisasi Nasional
- Winarti, S. 2006. *Minuman Kesehatan*. Surabaya: Trubus Agrisarana
- Yulisman, H. 2015. "Perbedaan Media Selektif dengan Media Diferensial", (Online), (<http://www.iakbelajar.com/2015/03/perbedaan-media-selektif-dengan-media.html?m=1>, diakses 15 Desember 2017)

## LAMPIRAN

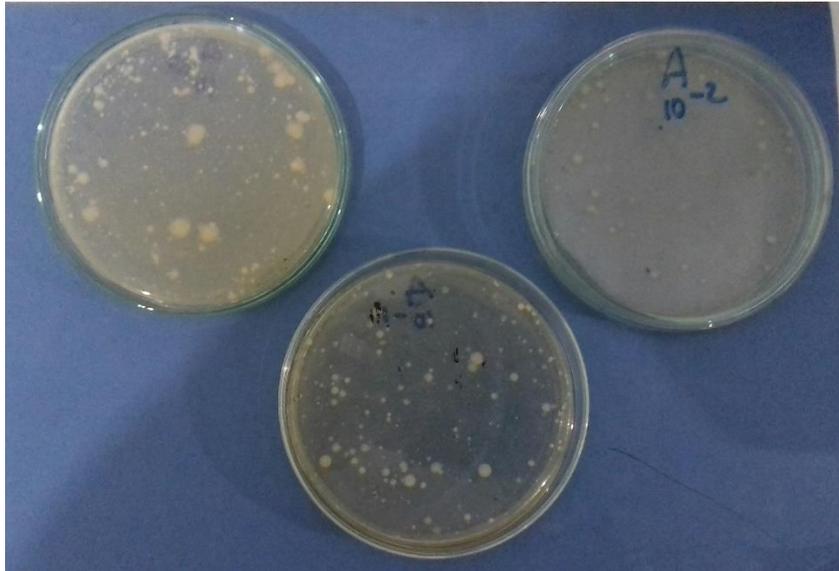
**Lampiran 1. Sampel Minuman Coklat (dengan Es batu)**



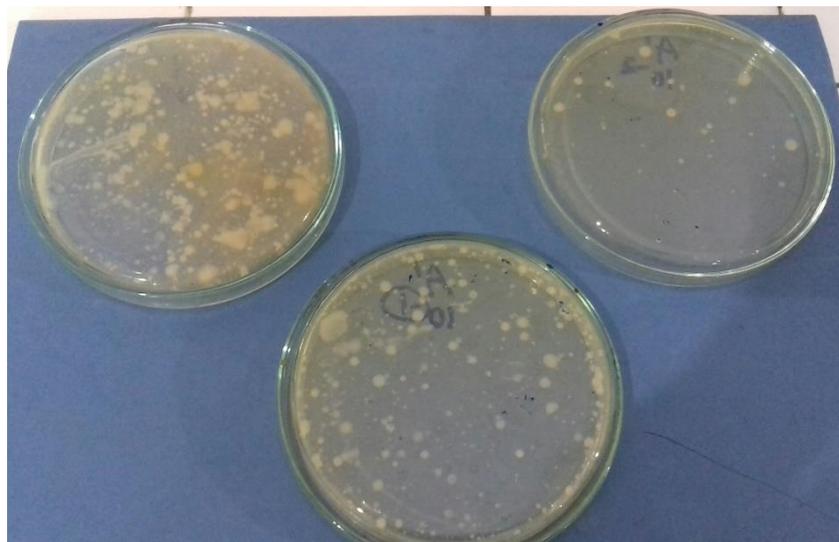
## Lampiran 2. Pengenceran



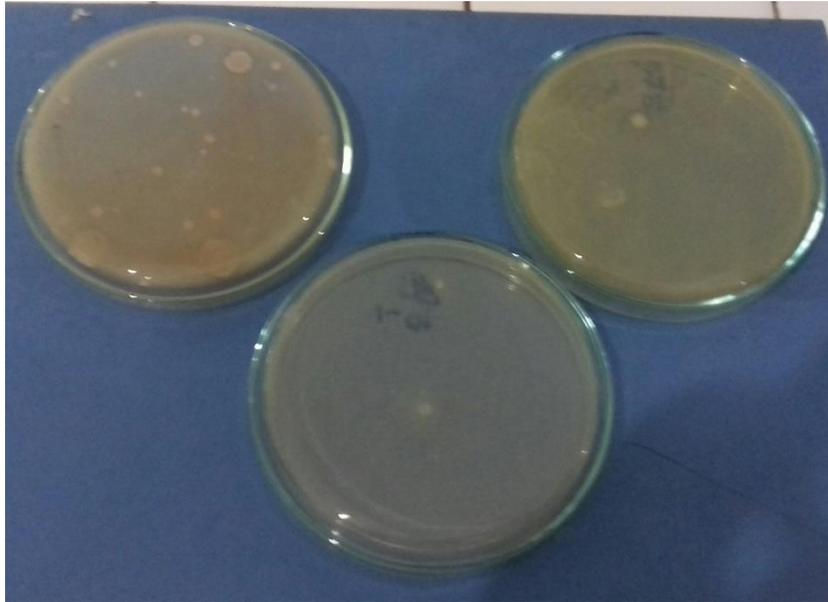
**Lampiran 3.** Hasil uji ALT pada Media Nutrien Agar (dengan Es batu)



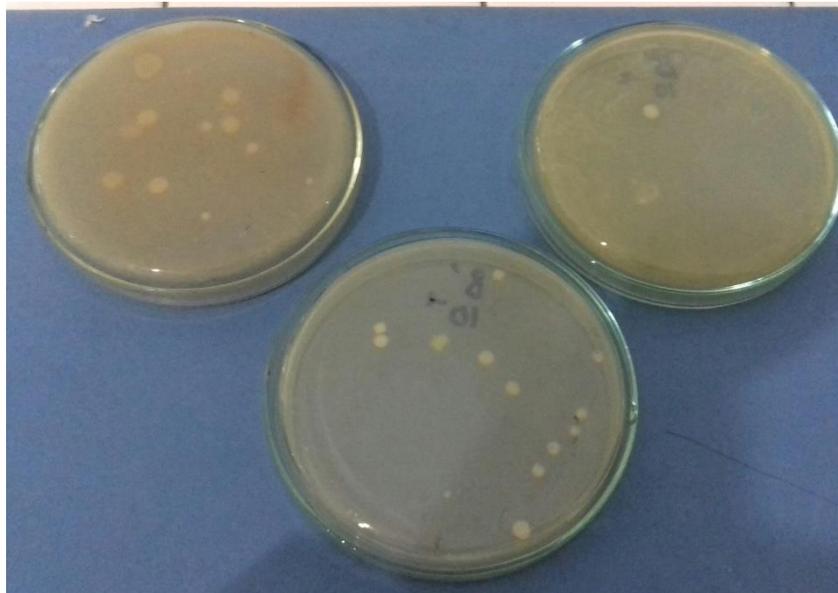
Hasil uji ALT pada Sampel A



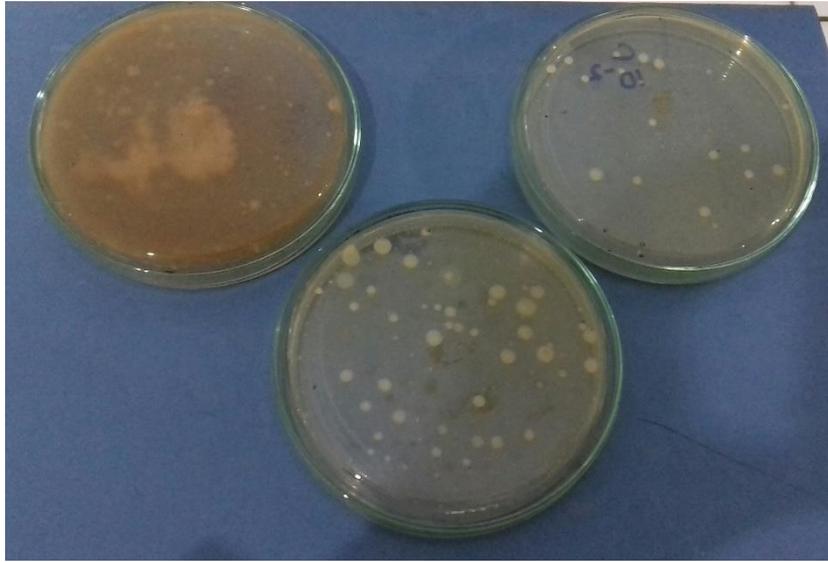
Hasil Uji ALT pada sampel A (Duplo)



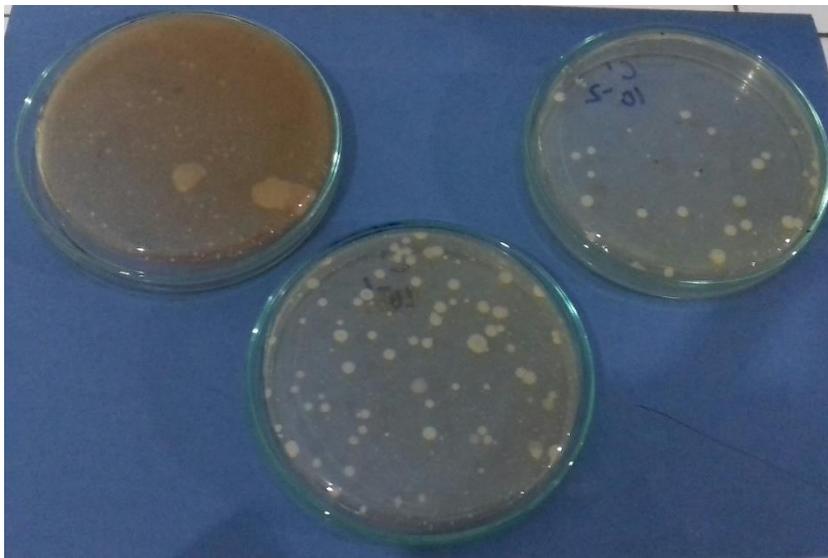
Hasil Uji ALT pada media sampel B



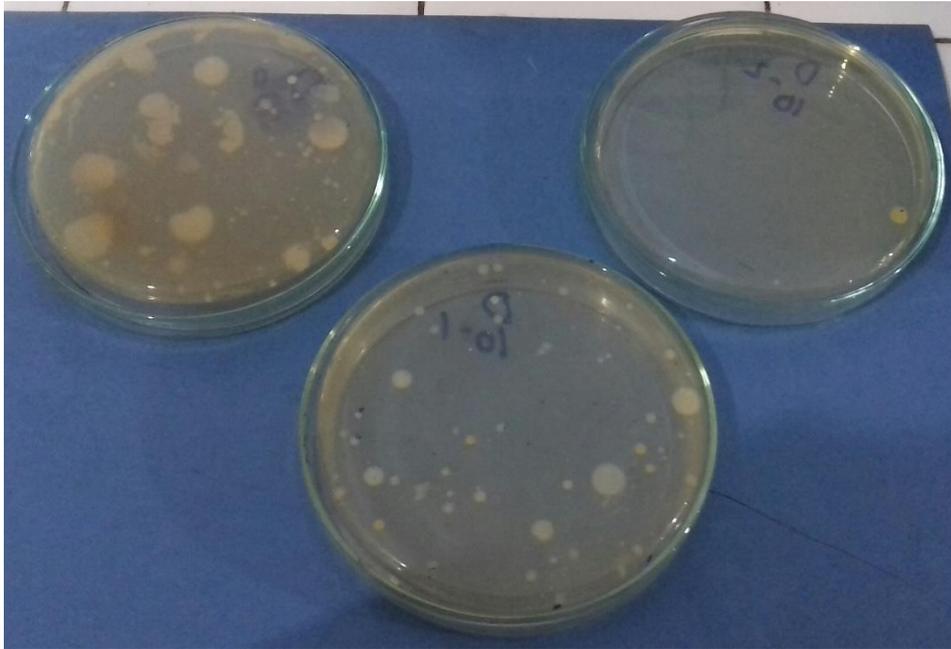
Hasil Uji ALT pada sampel B (Duplo)



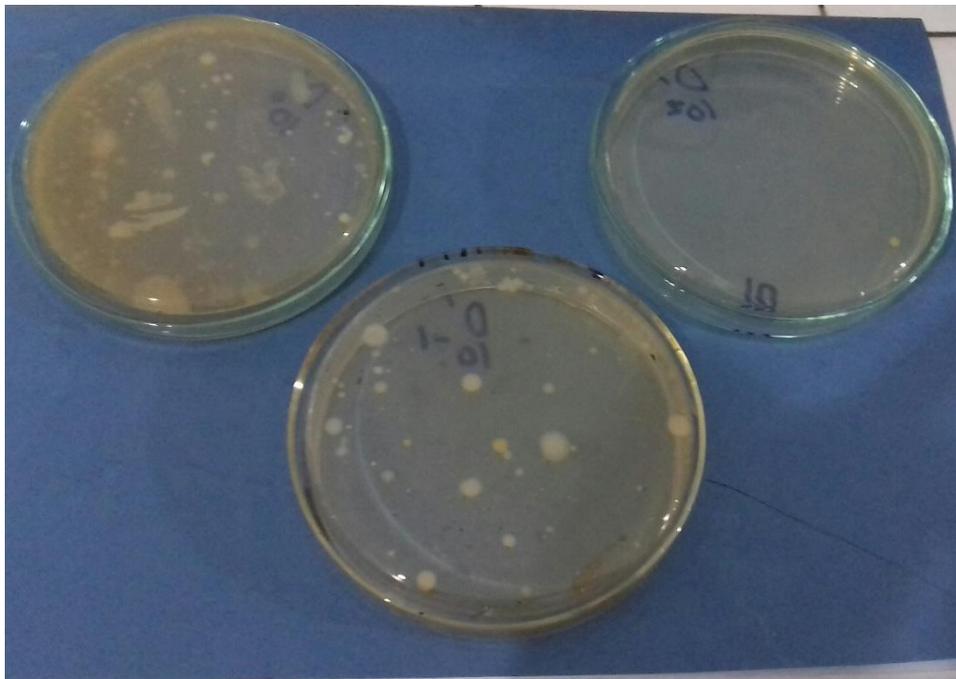
Hasil Uji ALT pada sampel C



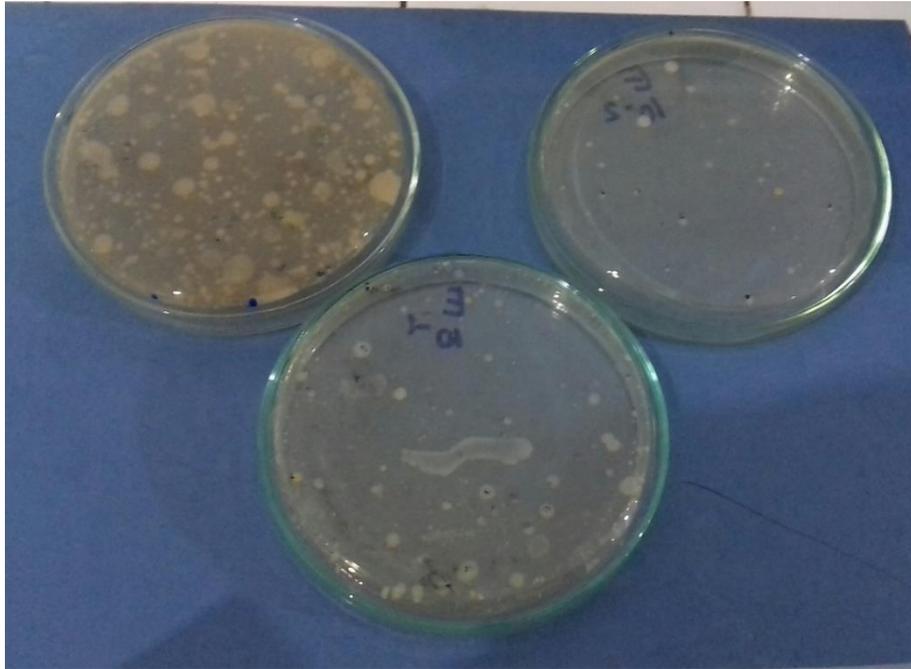
Hasil Uji ALT pada sampel C (Duplo)



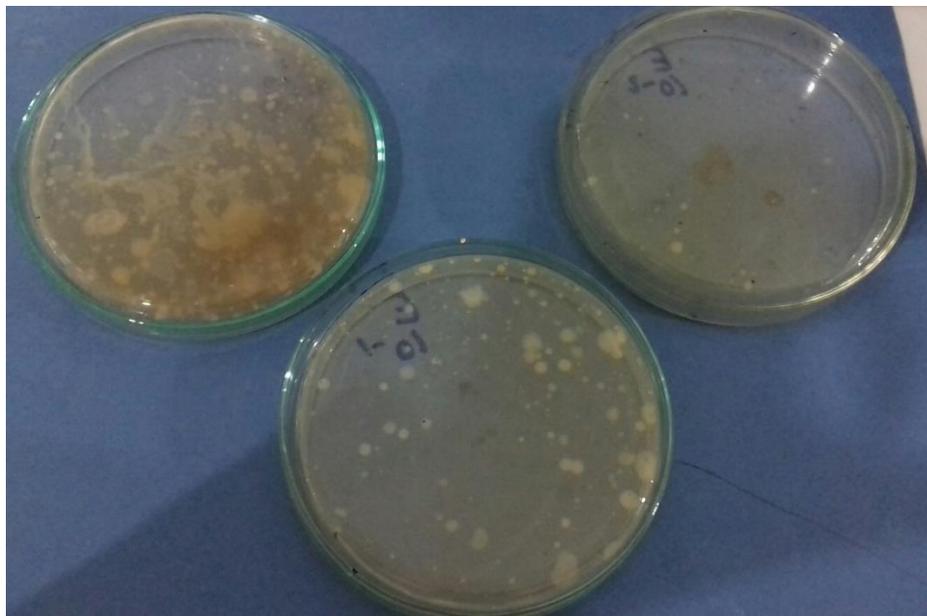
Hasil Uji ALT pada sampel D



Hasil Uji ALT pada sampel D (Duplo)

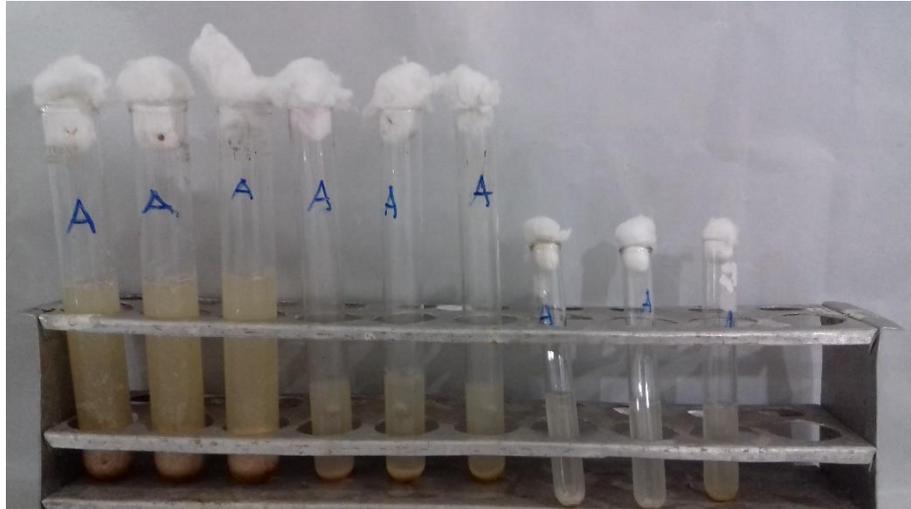


Hasil Uji ALT pada sampel E



Hasil Uji ALT pada sampel E (Duplo)

**Lampiran 4.** Hasil MPN *E.coli* pada Media LB (dengan Es batu)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel A



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel A (Duplo)



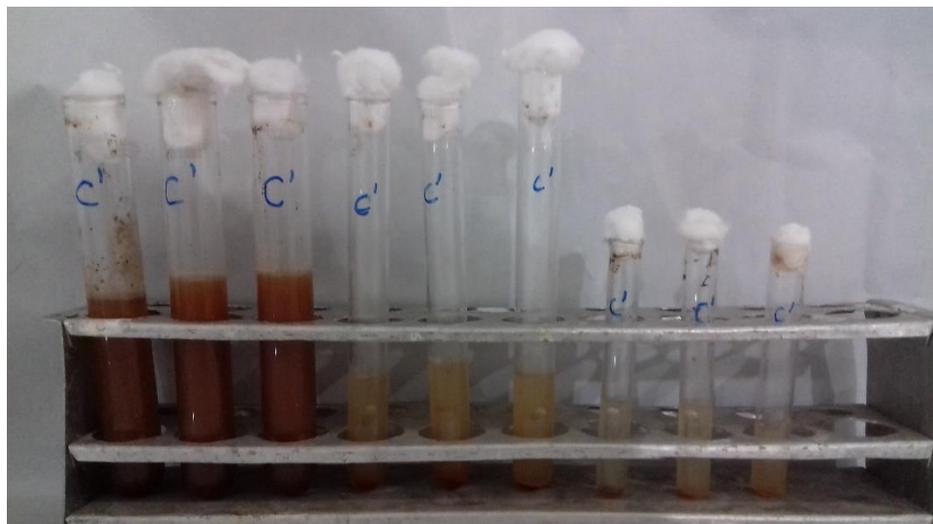
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel B



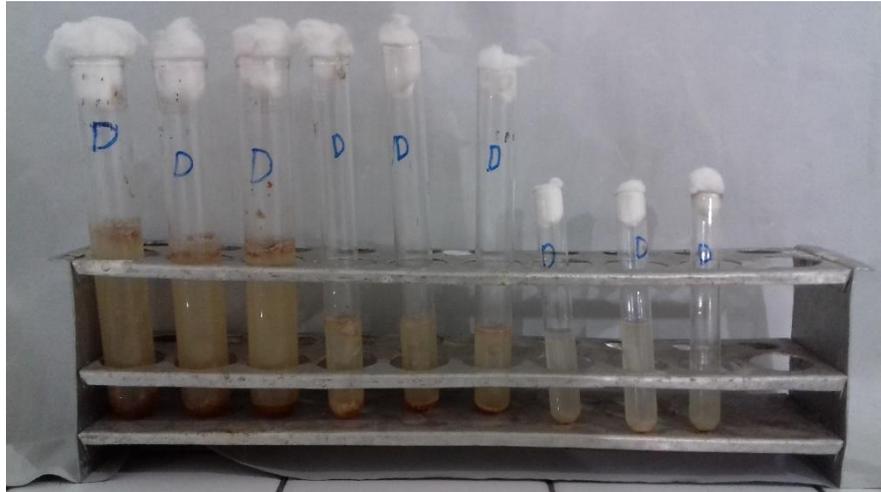
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel B (Duplo)



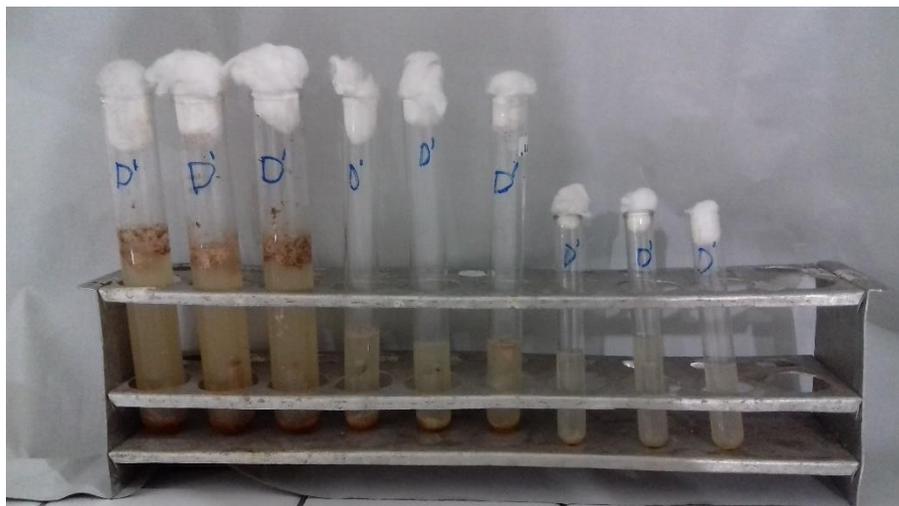
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel C



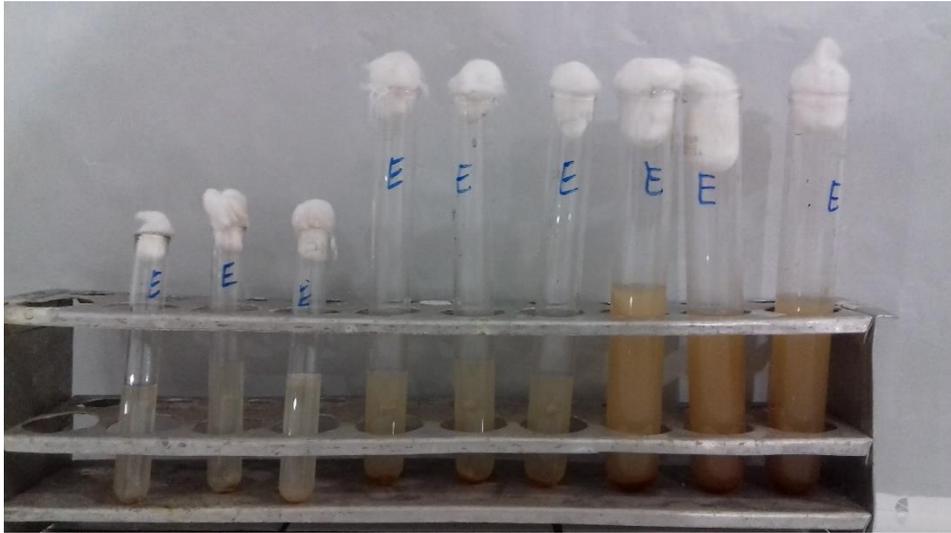
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel C (Duplo)



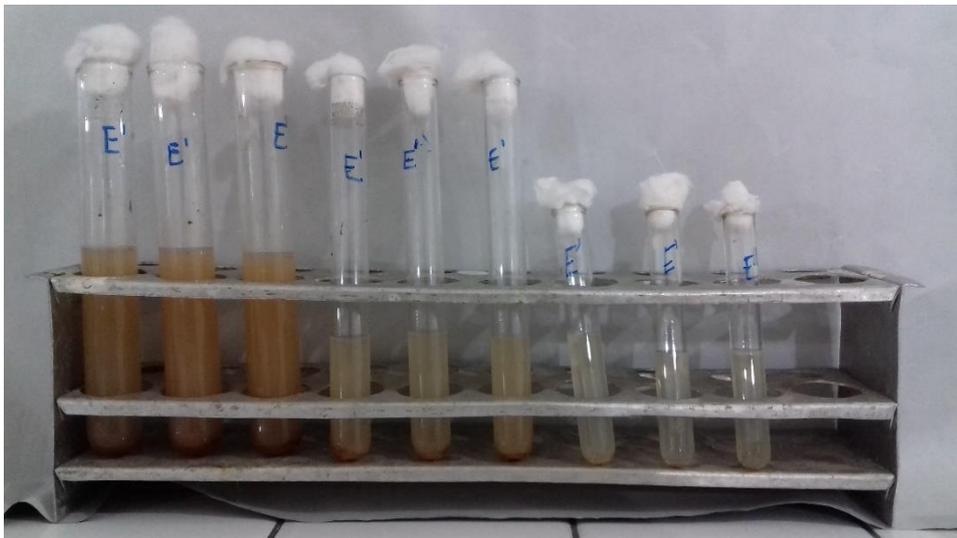
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel D



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel D (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel E



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel E (Duplo)

**Lampiran 5.** Hasil MPN *E.coli* pada Media BGLB (dengan Es batu)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel A



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel A (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel B



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel B (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel C



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel C



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel D



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel D (Duplo)

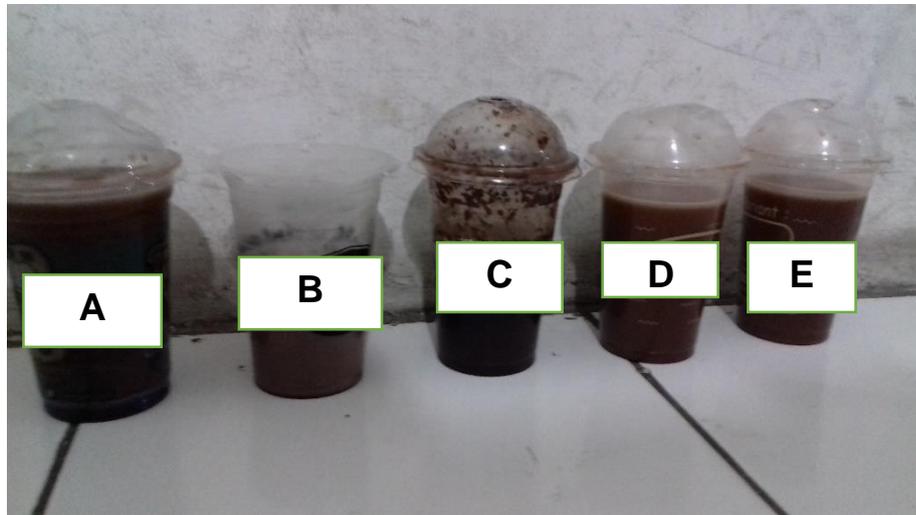


Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel E

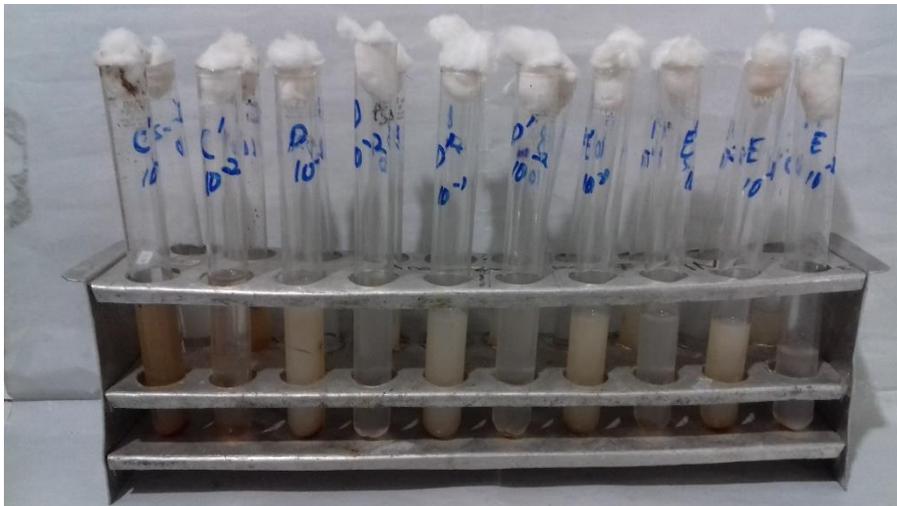
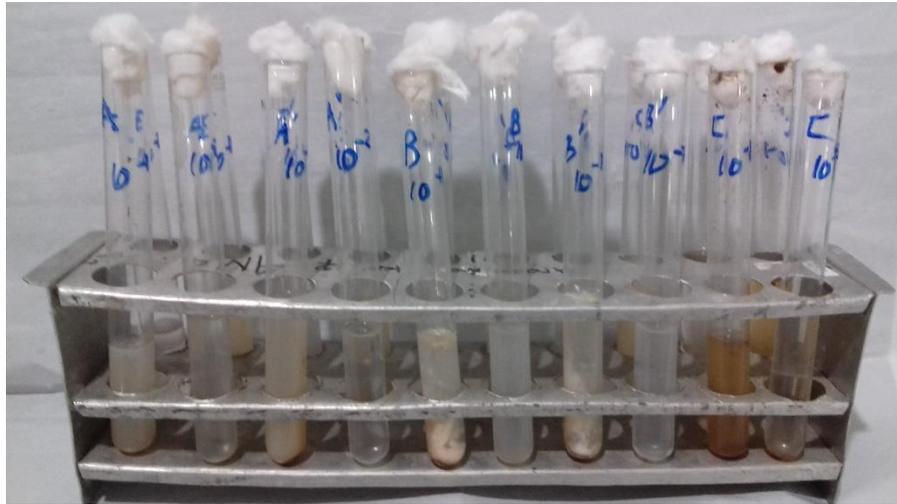


Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel E (Duplo)

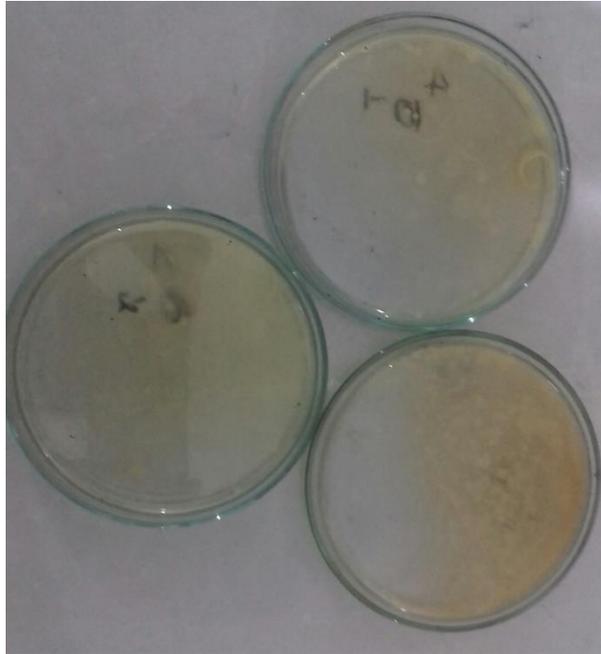
**Lampiran 6. Sampel Minuman Coklat (tanpa Es batu)**



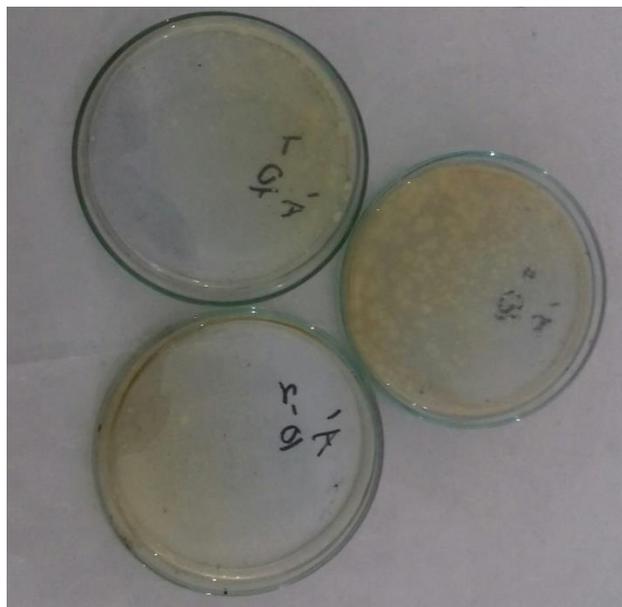
Lampiran 7. Pengenceran (tanpa Es batu)



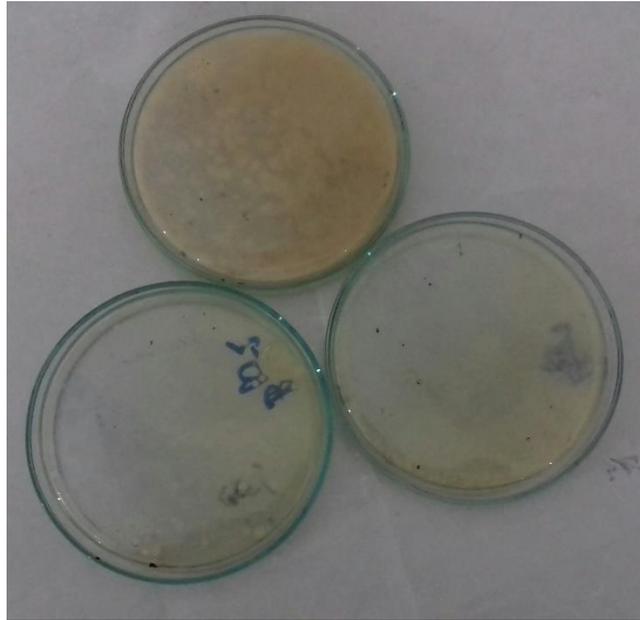
**Lampiran 8.** Hasil uji ALT pada Media Nutrien Agar (tanpa Es batu)



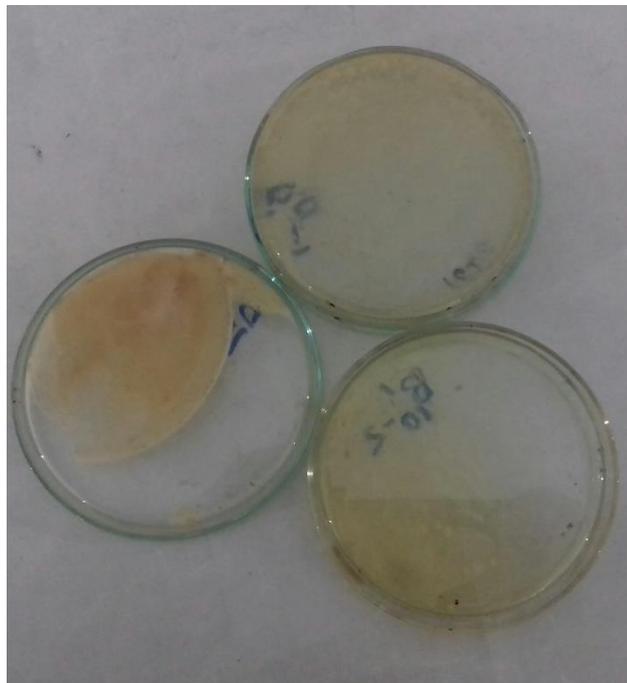
Hasil Uji ALT pada sampel A



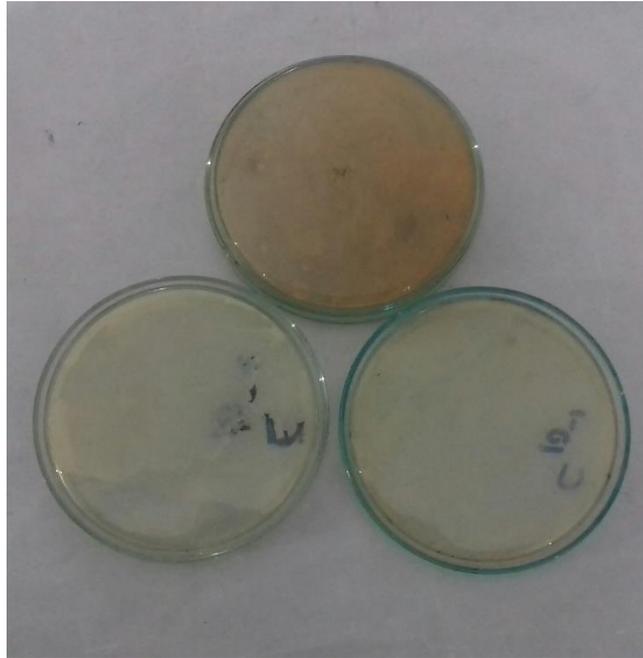
Hasil Uji ALT pada sampel A (Duplo)



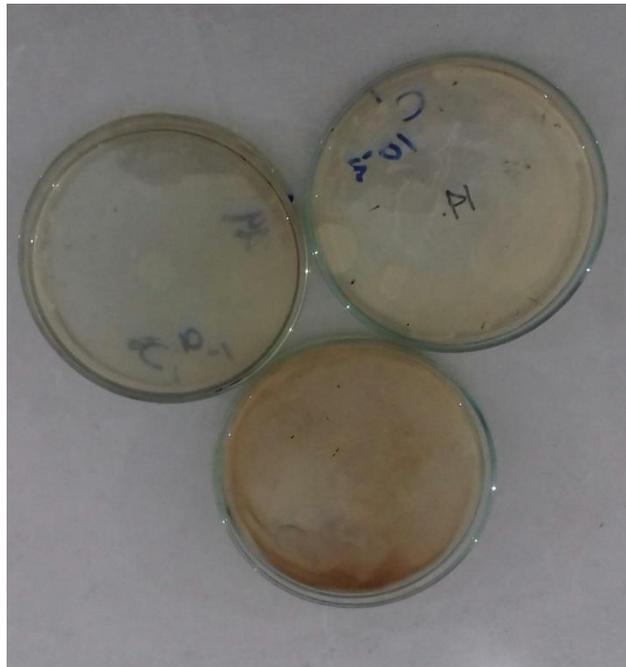
Hasil Uji ALT pada sampel B



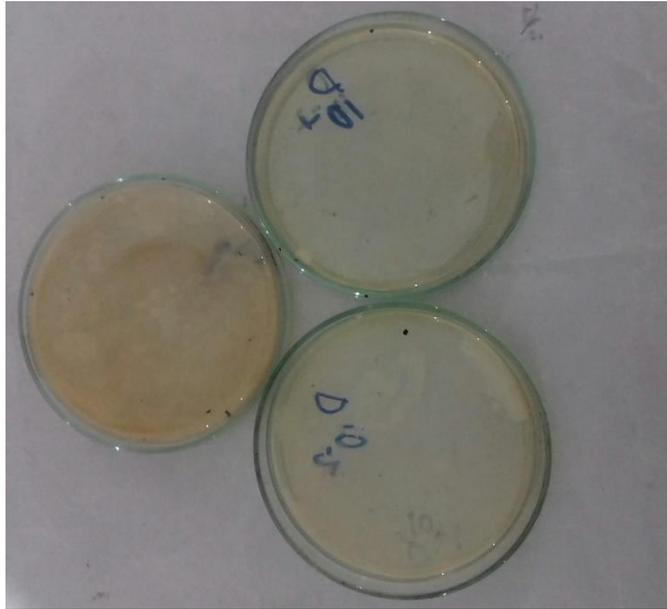
Hasil Uji ALT pada sampel B (Duplo)



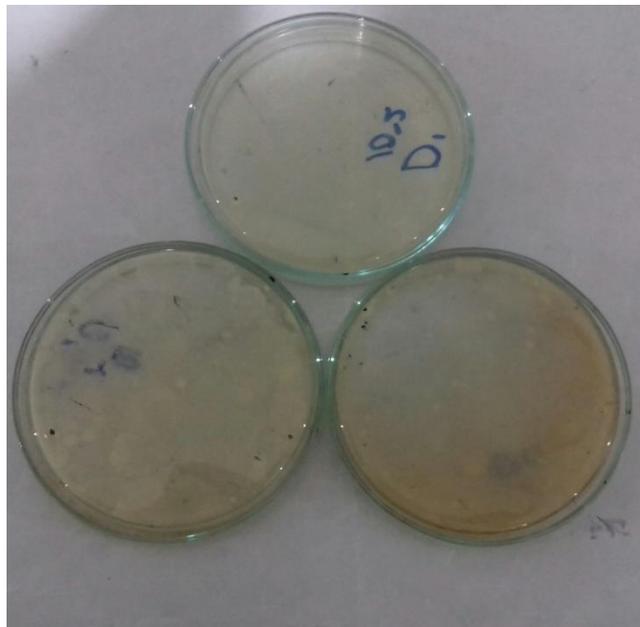
Hasil Uji ALT pada sampel C



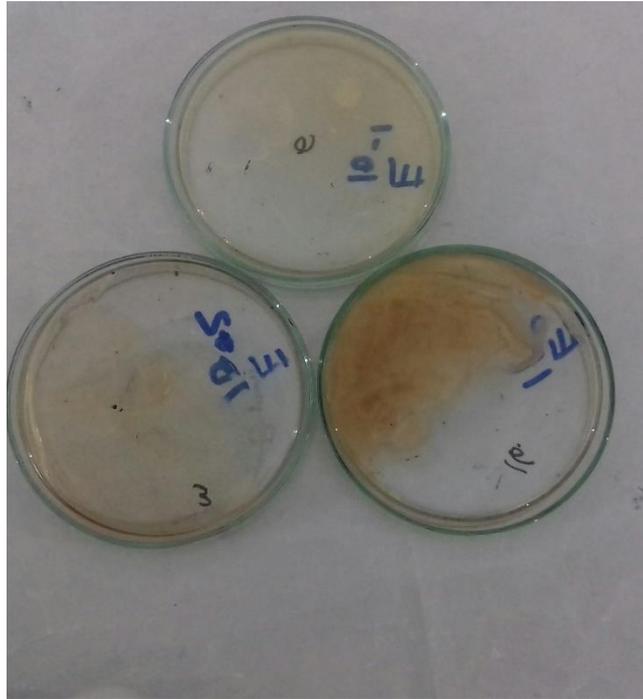
Hasil Uji ALT pada sampel C (Duplo)



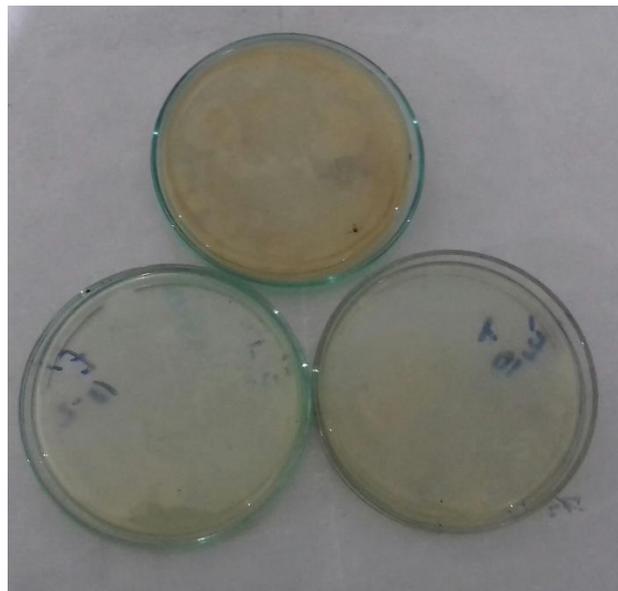
Hasil Uji ALT pada sampel D



Hasil Uji ALT pada sampel D (Duplo)

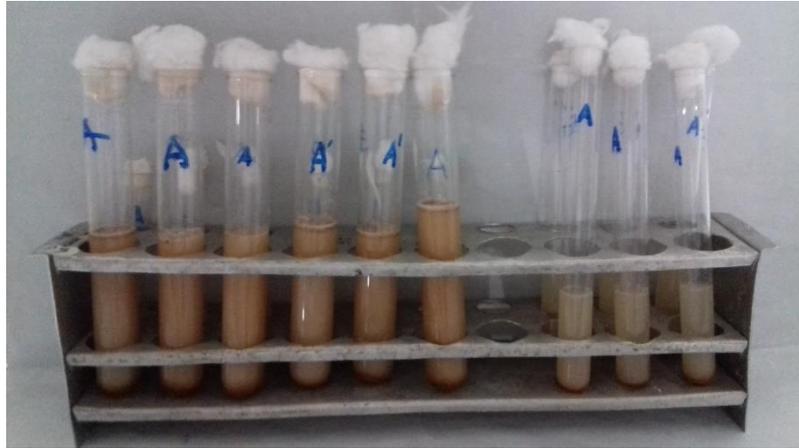


Hasil Uji ALT pada sampel E



Hasil Uji ALT pada sampel E (Duplo)

**Lampiran 9.** Hasil MPN *E.coli* pada Media LB (sampel tanpa es batu)



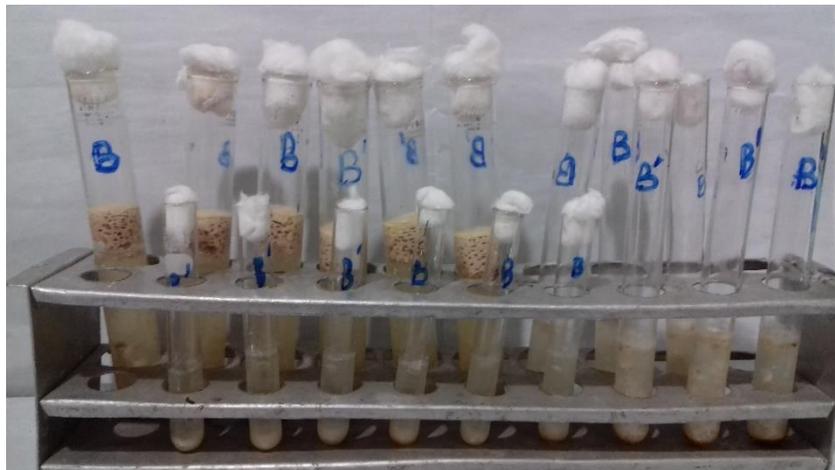
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel A



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel A (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel B



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel B (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel C



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel C (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel D



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel D (Duplo)

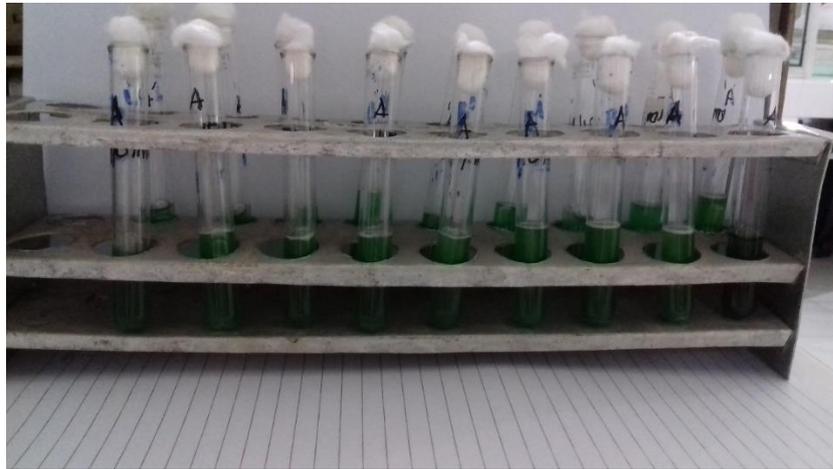


Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel E

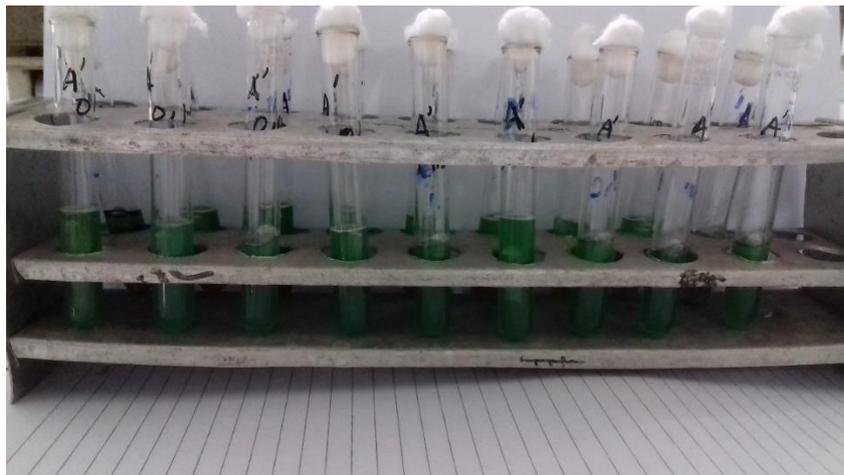


Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media LB pada sampel E (Duplo)

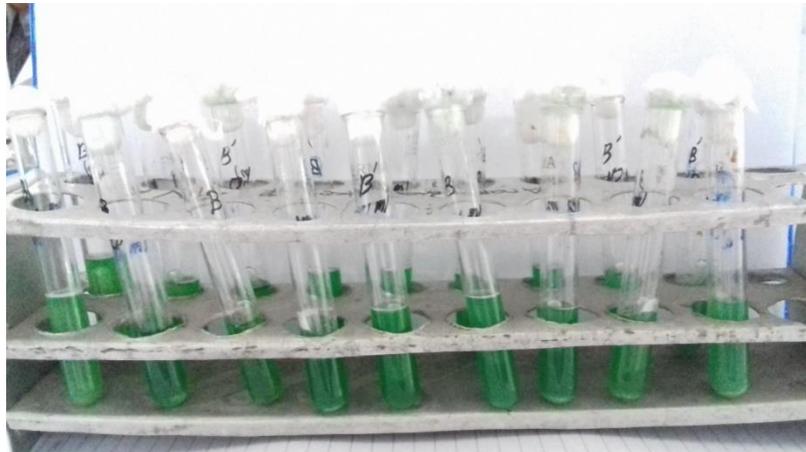
Lampiran10. Hasil MPN E.coli pada Media BGLB (sampel tanpa Es batu)



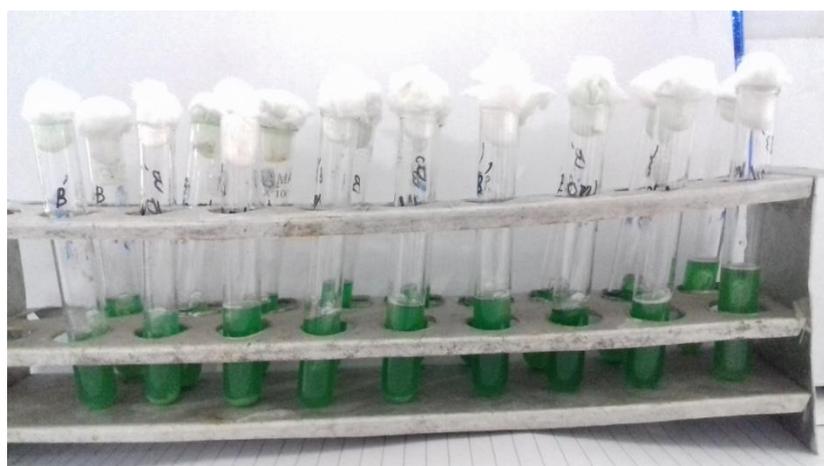
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel A



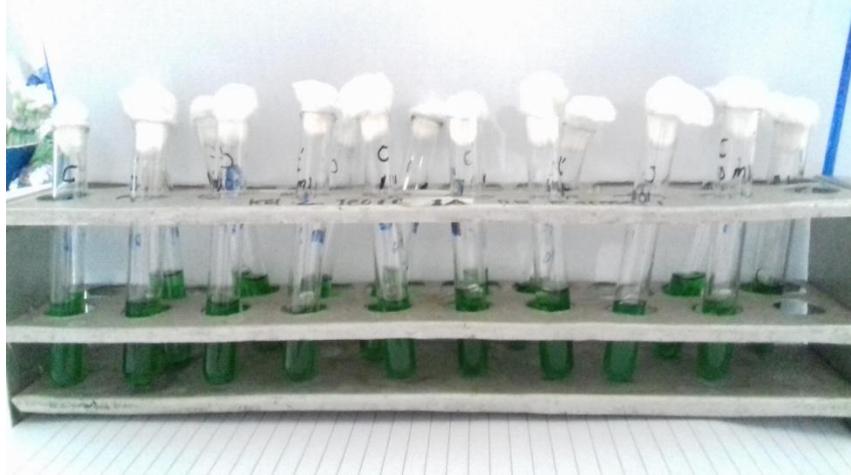
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel A (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel B



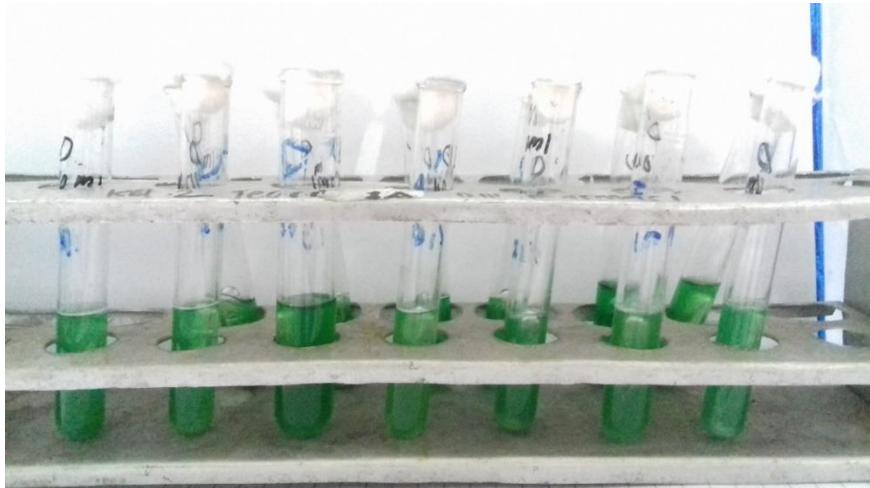
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel B (Duplo)



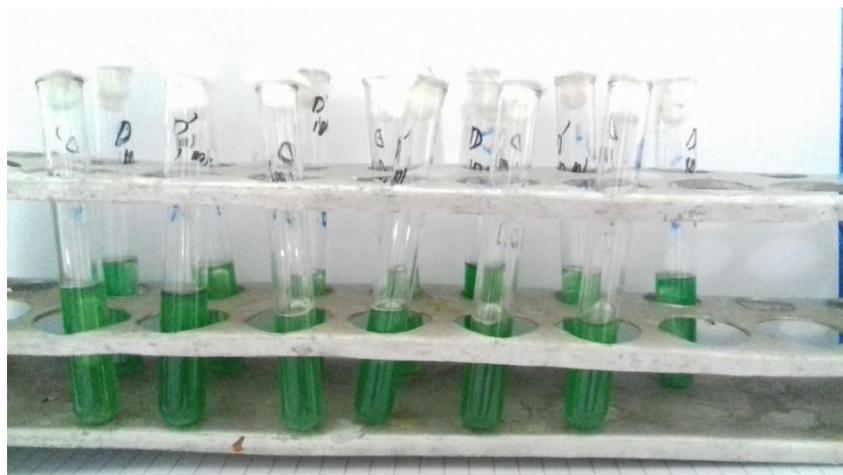
Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel C



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel C (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel D



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel D (Duplo)



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel E



Hasil MPN *Escherichia coli* dalam media BGLB pada sampel E (Duplo)

Lampiran 11. Tabel MPN

nomor tabung yang positif			indeks MPN per 100 ml	95% batas kepercayaan	
10 ml	1 ml	0,1 ml		terendah	tertinggi
0	0	1	3	<0.5	9
0	1	0	3	<0.5	13
1	0	0	4	<0.5	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	150
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	380
3	1	0	43	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1300
3	3	1	460	71	2400
3	3	2	1100	150	4800

## Lampiran 12. Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) dengan Es Batu

### Cara perhitungan:

Sampel A :

Pengenceran $10^0$ : 250	}	$1455/250 = 5,82$	hasil <2
Pengenceran $10^1$ : 145,5		$7300/1455 = 5,0172$	➔ maka dirata-
Pengenceran $10^2$ : 73		$5,82/5,0172 = 1,1600$	rata

$$\frac{248+1230+8900}{3} = 3459 \text{ jadi nilai ALT sampel A yaitu } 3,0 \times 10^3 \text{ koloni/g}$$

Sampel B

Pengenceran $10^0$ : >300	}	$4950/1470 = 3,3673$	hasil >2
Pengenceran $10^1$ : 147			➔ maka diambil
Pengenceran $10^2$ : 49,5			pengenceran terendah

Jadi nilai ALT pada sampel B adalah  $1,5 \times 10^2$  koloni/g

Sampel C

Pengenceran $10^0$ : 215	}	$765/215 = 3,5581$	hasil <2
Pengenceran $10^1$ : 76,5		$3600/765 = 4,7059$	➔ maka dirata-
Pengenceran $10^2$ : 36		$3,5581/4,7059 = 0,7561$	rata

$$\frac{215+765+3600}{3} = 1527 \text{ jadi nilai ALT sampel C yaitu } 1,5 \times 10^3 \text{ koloni/g}$$

Sampel D

Pengenceran $10^0$ : 63,5	}	$340/63,5 = 5,3543$	hasil > 2
Pengenceran $10^1$ : 34			➔ maka diambil
Pengenceran $10^2$ : 8,5			pengenceran terendah

Jadi Nilai ALT pada sampel D yaitu  $6,4 \times 10^1$  koloni/g

Sampel E

Pengenceran $10^0$ : 288	}	$910/288 = 3,1597$	hasil >2
Pengenceran $10^1$ : 91			➔ maka diambil
Pengenceran $10^2$ : 28,5			pengenceran terendah

Maka nilai ALT pada sampel E yaitu  $2,9 \times 10^2$  koloni/g.

**Lampiran 13.** Perhitungan Angka Lempeng Total (ALT) tanpa Es Batu

**Cara perhitungan:**

Sampel A :

Pengenceran  $10^0$  : 130  
Pengenceran  $10^1$  : 72,5  
Pengenceran  $10^2$  : 18

}  $725/130 = 5,5769$  → hasil >2  
maka diambil  
pengenceran terendah

Jadi nilai ALT pada sampel A yaitu  $1,3 \times 10^2$  koloni/g.

Sampel B

Pengenceran  $10^0$  : 19  
Pengenceran  $10^1$  : 14,5  
Pengenceran  $10^2$  : 3,5

} hasil tidak ada yang mencapai 30-300 sehingga  
tidak dapat dihitung

Sampel C

Pengenceran  $10^0$  : 102,5  
Pengenceran  $10^1$  : 42,5  
Pengenceran  $10^2$  : 18

}  $425/102,5 = 4,1463$  → hasil >2  
maka diambil  
pengenceran terendah

Jadi nilai ALT pada sampel C adalah  $1,0 \times 10^2$  koloni/g

Sampel D

Pengenceran  $10^0$  : 53  
Pengenceran  $10^1$  : 17,5  
Pengenceran  $10^2$  : 6

} Jadi nilai ALT pada sampel D adalah  $5,3 \times 10$   
koloni/g

Sampel E

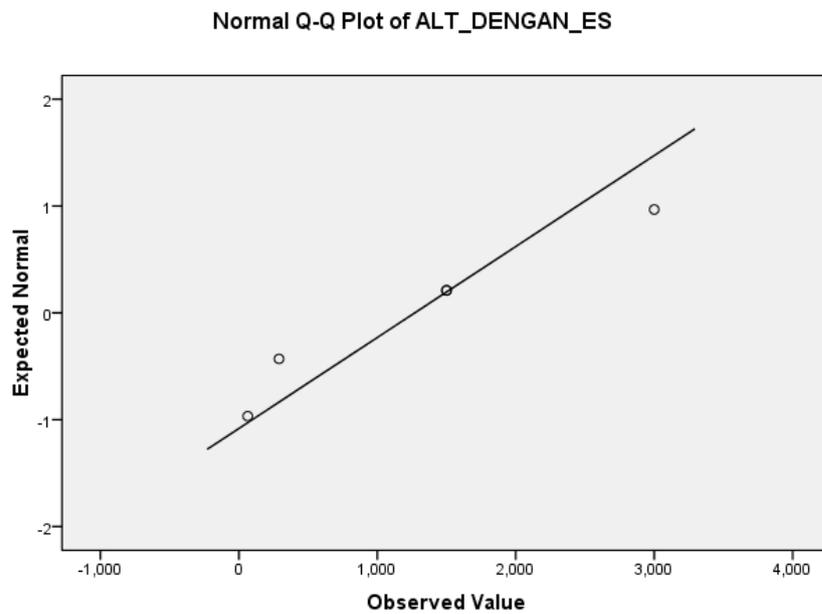
Pengenceran  $10^0$  : 20  
Pengenceran  $10^1$  : 10  
Pengenceran  $10^2$  : 5

} hasil tidak ada yang mencapai 30-300 sehingga  
tidak dapat dihitung.

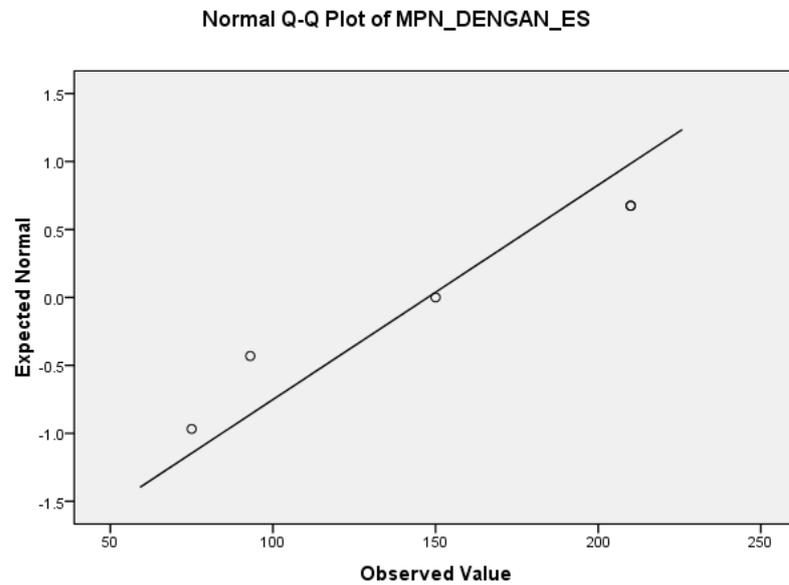
Lampiran 14. Tabel SPSS Uji Normalitas

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
ALT_DENGAN_ES	.223	5	.200 <sup>*</sup>	.913	5	.485
ALT_TANPA_ES	.216	5	.200 <sup>*</sup>	.890	5	.358
MPN_DENGAN_ES	.238	5	.200 <sup>*</sup>	.867	5	.256
MPN_TANPA_ES	.263	5	.200 <sup>*</sup>	.820	5	.116

Lampiran 15. Grafik ALT dengan es batu



**Lampiran 16. Grafik MPN dengan es batu**



**Lampiran 17. Tabel Uji Paired Sampel Statistik**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	ALT DENGAN ES	1270.8000	5	1174.04565	525.04918
	ALT TANPA ES	64.4000	5	49.32849	22.06037
Pair 2	MPN DENGAN ES	147.6000	5	63.33482	28.32419
	MPN TANPA ES	37.6000	5	22.75522	10.17644

**Lampiran 18.** Tabel Uji Paired Sampel Korelasi

**Paired Samples Correlations**

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	ALT DENGAN ES & ALT TANPA ES	5	.727	.164
Pair 2	MPN DENGAN ES & MPN TANPA ES	5	.826	.085

**Lampiran 19.** Tabel Paired Sampel t Test

**Paired Samples Test**

	Paired Differences	t	df	Sig. (2-tailed)	
					95% Confidence Interval of the Difference
					Upper
Pair 1 ALT DENGAN ES - ALT TANPA ES	2620.24551	2.369	4	.077	
Pair 2 MPN DENGAN ES - MPN TANPA ES	167.56690	5.305	4	.006	

## Lampiran 20. Komposisi Media

Komposisi bahan yang digunakan pada pemeriksaan mikrobiologi terhadap jumlah bakteri total, dan MPN *E. coli*.

### Nutrien Agar

Pepton from meat.....	5,0	gram
Meat extract.....	3,0	gram
Agar .....	12,0	gram
Aquadest.....	1,0	liter
pH.....	6,0	

### Lactose Broth

Pepton from gelatin.....	5,0	gram
Lactose .....	5,0	gram
Meat extract .....	3,0	gram
Aquadest.....	1,0	liter
pH.....	6,9	

### Brilliant Green Lactose Bile Broth

Pepton from meat.....	30,0	gram
Lactose .....	10,0	gram
Oxgall Bile.....	20,0	gram
Brilliant Green.....	0,01333	gram
Aquadest.....	1,0	liter
pH.....	7,4	