

## Uji Kualitas Mikrobiologi Minuman Berdasarkan Metode Most Probable Number (MPN)

### *Microbiological Quality Testing Of Beverages Based On The Most Probable Number (MPN) Method*

Putri Rabiah Al Adawiah<sup>a</sup>, Sri Wahyuni<sup>b</sup>, Nurwilda Kaswi<sup>c</sup>, Indra Permata A Salim<sup>d</sup>

Politeknik Muhammadiyah, Makassar <sup>a,b,c,d</sup>

<sup>a</sup>putrirabiah94@gmail.com

#### **Abstract**

*The Most Probable Number (MPN) test is a microbiological method used to estimate the number of Coliform bacteria as an indicator of sanitation quality and water safety. This study aims to determine the presence or absence of fecal Coliform and non-fecal Coliform bacteria contamination in roadside drinks in Makassar city using the MPN method through the stages of predictive testing, confirmatory testing and complementary testing. Samples were inoculated into Lactose Broth (LB) and Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) media, then incubated according to standard testing methods. The results showed the formation of gas in several predictive test tubes, but at the fecal Coliform confirmation stage no bacterial growth was found indicating the presence of fecal Coliform. The MPN value obtained indicates that the sample is classified as non-fecal or negative for fecal Coliform bacteria contamination. These results indicate that the sample has good microbiological quality based on fecal Coliform parameters, although other microbiological parameter testing is still needed to obtain a comprehensive picture of sample quality. This study confirms that the MPN method is effective as a screening method in water quality evaluation and early detection of microbiological contamination.*

**Keyword:** Beverages, Most Probable Number (MPN), fecal Coliform, non-fecal.

#### **Abstrak**

Uji *Most Probable Number* (MPN) merupakan salah satu metode mikrobiologi yang digunakan untuk mengestimasi jumlah bakteri koliform sebagai indikator kualitas sanitasi dan keamanan air. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya pencemaran bakteri *Coliform fekal* dan *Coliform non fekal* pada minuman pinggir jalan di kota Makassar dengan menggunakan metode MPN melalui tahap uji penduga, uji penegas dan uji pelengkap. Sampel diinokulasikan ke dalam media *Lactose Broth* (LB) dan *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB), kemudian diinkubasi sesuai standar metode pengujian. Hasil pengamatan menunjukkan terbentuknya gas pada beberapa tabung uji penduga, namun pada tahap konfirmasi koliform fekal tidak ditemukan pertumbuhan bakteri yang mengindikasikan keberadaan koliform fekal. Nilai MPN yang diperoleh menunjukkan bahwa sampel tergolong non fekal atau negatif terhadap kontaminasi bakteri koliform fekal. Hasil ini mengindikasikan bahwa sampel memiliki kualitas mikrobiologis yang baik berdasarkan parameter koliform fekal, meskipun tetap diperlukan pengujian parameter mikrobiologi lainnya untuk memperoleh gambaran menyeluruh mengenai kualitas sampel. Penelitian ini menegaskan bahwa metode MPN efektif digunakan sebagai metode skrining dalam evaluasi kualitas air dan deteksi dini kontaminasi mikrobiologis.

**Kata Kunci:** Minuman, *Most Probable Number* (MPN), Koliform fekal, Non fekal.

## 1. Pendahuluan

Minuman merupakan salah satu kebutuhan manusia yang harus dipenuhi. Seiring berkembangnya inovasi maka muncullah variasi minuman yang di gemari Masyarakat. Minat akan minuman yang semakin meningkat menyebabkan banyaknya penjual yang berjualan di pinggir jalan untuk memudahkan produsen. Salah satu minuman yang sering ditemui yaitu Es teh.

Es teh merupakan salah satu minuman yang digemari masyarakat di Indonesia yang disajikan dengan cara yang beragam, namun terdapat beberapa faktor kontaminasi yang dapat menyebabkan pencemaran bakteri dalam minuman teh, misalnya penambahan es dan air putih, cara menyiram teh, alat yang dipakai pada lingkungan penjualan, pembuat dan pencucian peralatan

Air merupakan salah satu kebutuhan setiap manusia. Tanpa air, berbagai proses kehidupan tidak dapat berlangsung sedemikian rupa sehingga menjamin kesehatan dan kelangsungan hidup tubuh yang baik. Penyediaan air merupakan penentu kesehatan dan kesejahteraan manusia dan tugas mulia dalam mendukung keberadaan manusia. Kemampuan perusahaan air minum dalam menyediakan air siap minum menjadi faktor penentu dalam peningkatan produksi dan pengembangan jaringan distribusi. Kondisi kesehatan dan kesejahteraan manusia yang ideal ini masih jauh dari harapan kita (Pratiwi, 2007).

Untuk menentukan air minum yang aman untuk dikonsumsi diperlukan suatu parameter yang ditetapkan pemerintah yaitu berdasarkan Permenkes No. 492/Menkes/Per/IV/2010 salah satu persyaratan yaitu mikrobiologi. Persyaratan mikrobiologi air minum yaitu air minum tidak boleh mengandung mikroba patogen, baik virus, bakteri atau parasit. *Escherichia coli* merupakan bagian dari *Coliform* fekal yang menjadi indikator utama penilaian keamanan mikrobiologi air minum yang tidak boleh ditemukan dalam minimum 100 mL air (Hardinsyah et al., 2011; Pelczar, 2006).

Salah satu metode yang digunakan untuk melakukan identifikasi bakteri *Coliform* adalah metode *Most Probable Number* (MPN). Metode ini menggunakan media cair pada tabung reaksi yang digunakan untuk melakukan tingkat penilaian positif berdasarkan jumlah tabung reaksi. Hasil positif dapat dilihat dari kekeruhan, atau terbentuknya gas pada tabung Durham (Jiwintarum et al., 2017).

Bakteri *Coliform* merupakan suatu kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator pencemaran air. Adanya bakteri *Coliform* dalam air minum menunjukkan kemungkinan terdapat mikroba enteropatogenik dan toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan. Kelompok dari bakteri *Coliform* antara lain yaitu *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella*, *Klebsiella*. Bakteri *Coliform* yang terdapat dalam air minum isi ulang tidak menimbulkan reaksi dalam waktu yang singkat, tetapi dalam jangka waktu tertentu dapat menimbulkan penyakit, seperti diare. Kandungan bakteri *Coliform* dalam air minum isi ulang disebabkan faktor ketidaksempurnaan higienis produksi air minum isi ulang, sanitasi yang rendah, dan sumber air baku yang tercemar (Hasruddin & Pratiwi, 2015).

Bakteri *Coliform* terbagi dalam kelompok *Coliform fekal* seperti *Escherichia coli*, merupakan bakteri yang berasal dari kotoran hewan dan manusia, dan *Coliform non fekal* seperti *Enterobakter aerogenes*. Adanya fekal dan non fekal *Coliform* seperti *E coli* pada air minum, menunjukkan bahwa air minum yang dijadikan sumber pemenuhan kebutuhan hidup telah terkontaminasi (14–17). Mengingat air dapat menjadi faktor utama dalam penularan penyakit di masyarakat, maka penyediaan air bersih atau air minum yang sesuai dengan standar kewajiban utama untuk mencegah penyebaran penyakit oleh air. Merujuk pada permenkes No. 2 tahun 2023 yang menyatakan Air minum harus bebas cemaran biologis, dengan nilai *E coli* dan total *Coliform* adalah 0 CFU/100ml (1,7,18).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya pencemaran bakteri *Coliform fekal* dan *Coliform non fekal* pada minuman yang di kota makassar.

## 2. Metode

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2025 di Laboratorium Bakteriologi Politeknik Muhammadiyah Makassar. Populasi penelitian berupa minuman yang dijual di pinggir jalan di Kota Makassar, dengan sampel yang diambil secara acak meliputi es teh, es jeruk, es milo (lokasi 1), es teh, es jeruk, Pop Ice melon (lokasi 2), dan Pop Ice strawberry (lokasi 3). Sampel segera dibawa ke laboratorium dan dianalisis dalam waktu kurang dari 24 jam setelah pengambilan untuk menjaga kualitas sampel selama proses pengujian.

Pemeriksaan mikrobiologi dilakukan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) yang terdiri atas tiga tahapan, yaitu uji penduga, uji penegasan, dan uji konfirmasi. Pada uji penduga, sampel diinokulasikan ke dalam media *Lactose Broth* (LB) dengan ragam 5–1–1, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham dan kekeruhan media (Fardiaz, 1993). Sampel yang menunjukkan hasil positif selanjutnya diuji menggunakan media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) dengan metode MPN lima tabung untuk menegaskan keberadaan bakteri *Coliform*. Tabung yang menghasilkan gas setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dinyatakan positif dan jumlah tabung positif dihitung berdasarkan Formula Thomas (Fardiaz, 1993).

Tahap akhir dilakukan melalui uji konfirmasi menggunakan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dengan metode gores kuadran. Kultur dari tabung BGLB positif diinokulasikan ke media EMBA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil dinyatakan positif apabila terbentuk koloni berwarna hijau metalik yang menunjukkan keberadaan *Escherichia coli*, sedangkan tidak terbentuknya koloni tersebut menunjukkan hasil negatif terhadap kontaminasi *Coliform fekal*. Data dianalisis secara deskriptif dengan mencatat jumlah tabung positif pada setiap tahap pengujian dan menentukan nilai MPN berdasarkan Tabel MPN ragam 5–1–1 menggunakan Formula Thomas.

## 3. Hasil Dan Pembahasan

### Uji Penduga (Lb) *Lactose Broth*

Metode *Most Probable Number* (MPN) merupakan metode yang banyak digunakan untuk mendeteksi bakteri koliform sebagai indikator kualitas mikrobiologi pangan dan minuman. Keberadaan koliform sering digunakan sebagai indikator sanitasi karena kelompok bakteri ini berkaitan dengan kemungkinan kontaminasi dari lingkungan maupun sumber fekal.

**Tabel 1. Hasil Uji Penduga**

| KODE SAMPEL            | LOKASI   | TABUNG POSITIF |          |            | INTEPRETASI HASIL               | JUMLAH POSITIF |
|------------------------|----------|----------------|----------|------------|---------------------------------|----------------|
|                        |          | 5 x 10 ml      | 1 x 1 ml | 1 x 0,1 ml |                                 |                |
| Es Teh (1)             | Lokasi 1 | 2              | 1        | 0          | Terdapat gas pada tabung durham | 3              |
| Es Jeruk (1)           |          | 2              | 0        | 0          | Terdapat gas pada tabung durham | 2              |
| Es Milo (1)            |          | 2              | 0        | 1          | Terdapat gas pada tabung durham | 3              |
| Es Teh (2)             | Lokasi 2 | 5              | 1        | 1          | Terdapat gas pada tabung durham | 7              |
| Es Jeruk (2)           |          | 1              | 1        | 1          | Terdapat gas pada tabung durham | 3              |
| Pop Ice Melon (2)      |          | 2              | 0        | 1          | Terdapat gas pada tabung durham | 3              |
| Pop Ice Strawberry (3) | Lokasi 3 | 0              | 1        | 1          | Terdapat gas pada tabung durham | 2              |

Berdasarkan hasil penelitian pada Tabel 1, seluruh sampel minuman (7 sampel) menunjukkan hasil positif mengandung bakteri *Coliform* pada uji penduga. Sampel yang telah diinokulasikan ke dalam media *Lactose Broth* (LB) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham serta adanya kekeruhan pada media. Pembentukan gas terjadi akibat proses fermentasi laktosa oleh bakteri *Coliform*, sehingga gas yang dihasilkan terperangkap di dalam tabung Durham. Proses fermentasi tersebut juga menghasilkan senyawa asam

yang menyebabkan media menjadi keruh. Sebaliknya, apabila setelah proses inkubasi tidak terbentuk gas maupun kekeruhan, maka sampel dinyatakan negatif terhadap keberadaan bakteri *Coliform*. Sampel yang menunjukkan hasil positif pada uji penduga selanjutnya dianalisis menggunakan uji penegasan (*confirmed test*) untuk memastikan keberadaan bakteri *Coliform*.

Media LB (*Lactose Broth*) yang telah ditambahkan sampel kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan adanya gas dalam tabung durham dan terbentuk kekeruhan. Gas tersebut berasal dari hasil fermentasi laktosa dan akan terperangkap dalam tabung durham sehingga menyebabkan laktosa bersifat asam dan menggumpal membentuk kekeruhan, tetapi jika setelah inkubasi tidak ditemukan gelembung gas dan kekeruhan maka sampel dinyatakan negatif. Pengujian dilanjutkan ke tahap uji penegasan (*Confirmed test*) pada sampel yang dinyatakan positif.

Bakteri *Coliform* digolongkan menjadi 2 (dua) yaitu *Coliform non fekal* dan *Coliform fekal*, contoh bakteri non fekal yaitu *Enterobacter aerogenes* yang biasanya ditemukan pada hewan atau tanaman-tanaman yang telah mati, sedangkan bakteri *Coliform fekal* yaitu *Escherichia coli* yang berasal dari kotoran hewan maupun manusia (Rophi, 2022).

### Uji Penguat (BGLB)

**Tabel 2. Hasil Uji Penguat**

| KODE SAMPEL            | LOKASI   | TABUNG POSITIF |          |            | INTEPRHASIL                                                  |
|------------------------|----------|----------------|----------|------------|--------------------------------------------------------------|
|                        |          | 5 x 10 ml      | 1 x 1 ml | 1 x 0,1 ml |                                                              |
| Es Teh (1)             | Lokasi 1 | 0              | 1        | 0          | Warna terlihat lebih keruh dan terdapat gas yang sangat kuat |
| Es Milo (1)            |          | 1              | 0        | 0          | Warna terlihat lebih keruh dan terdapat gas yang sangat kuat |
| Es Teh (2)             | Lokasi 2 | 5              | 1        | 1          | Warna terlihat lebih keruh dan terdapat gas yang sangat kuat |
| Es Jeruk (2)           |          | 1              | 1        | 1          | Warna terlihat lebih keruh dan terdapat gas yang sangat kuat |
| Pop Ice Melon (2)      | Lokasi 3 | 1              | 0        | 1          | Warna terlihat lebih keruh dan terdapat gas yang sangat kuat |
| Pop Ice Strawberry (3) |          | 0              | 1        | 1          | Warna terlihat lebih keruh dan terdapat gas yang sangat kuat |

Berdasarkan hasil uji penguat pada Tabel 2, dari tujuh sampel yang dianalisis diperoleh enam sampel yang menunjukkan hasil positif, yaitu Es Teh (2), Es Milo (2), Es Teh (3), Es Jeruk (3), Pop Ice Melon (3), dan Pop Ice Strawberry (4). Uji konfirmasi (*confirmed test*) dilakukan menggunakan media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB). Hasil dinyatakan positif apabila setelah inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C terbentuk gelembung gas pada tabung Durham disertai kekeruhan pada media BGLB. Sebaliknya, apabila tidak ditemukan gelembung gas maupun kekeruhan setelah inkubasi, maka sampel dinyatakan negatif. Adanya kekeruhan pada media BGLB serta

pembentukan gas pada tabung Durham menunjukkan pertumbuhan bakteri *Coliform* dalam sampel yang diuji (Sabila & Setyaningrum, 2023; Safitri & Djasfar, 2023).

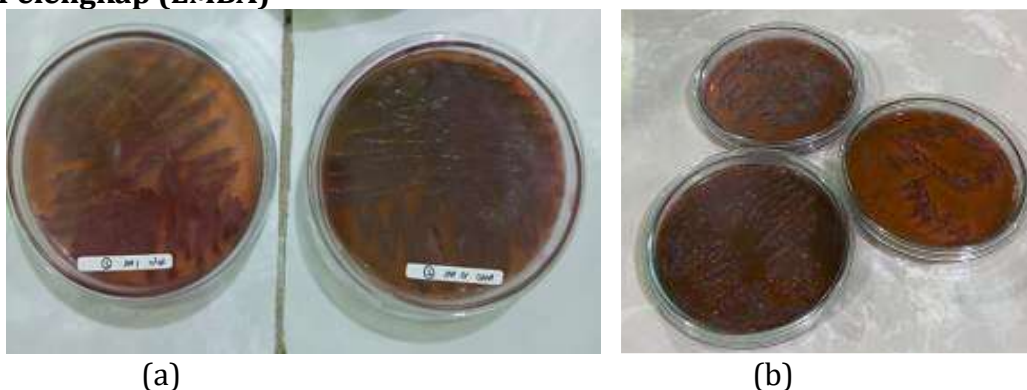
Media BGLB digunakan pada uji konfirmasi (*Confirmed test*). Hasil dinyatakan positif jika terdapat gelembung gas dalam tabung durham dan terjadinya kekeruhan pada media BGLB setelah diinkubasi 24 jam dengan suhu 37°C. Sebaliknya jika setelah inkubasi tidak terdapat gelembung gas dalam tabung durham dan tidak terjadi kekeruhan maka sampel dinyatakan negatif. Terbentuknya kekeruhan pada media BGLB dan gelembung gas pada tabung durham menandakan adanya pertumbuhan bakteri *Coliform* (Sabila & Setyaningrum, 2023).

Pada penelitian ini, hasil uji penduga menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada beberapa sampel. Namun, setelah dilakukan uji konfirmasi dan identifikasi, bakteri yang ditemukan bukan termasuk kelompok koliform. Kondisi ini dapat terjadi karena beberapa bakteri non-koliform juga mampu tumbuh pada media penduga dan memfermentasi laktosa sehingga menghasilkan reaksi yang menyerupai koliform. Oleh karena itu, uji konfirmasi merupakan tahapan penting untuk menghindari interpretasi positif palsu (*false positive*).

Keberadaan bakteri non-koliform tidak dapat dijadikan bukti adanya kontaminasi fekal, tetapi tetap menunjukkan bahwa minuman mengalami kontaminasi mikroba. Kontaminasi tersebut dapat berasal dari bahan baku, air yang digunakan, peralatan produksi, proses pengolahan, penyimpanan, maupun penanganan produk yang kurang higienis. Dengan demikian, meskipun sampel tidak terkonfirmasi mengandung koliform, penerapan higiene dan sanitasi selama proses produksi tetap perlu diperhatikan untuk menjaga mutu dan keamanan produk.

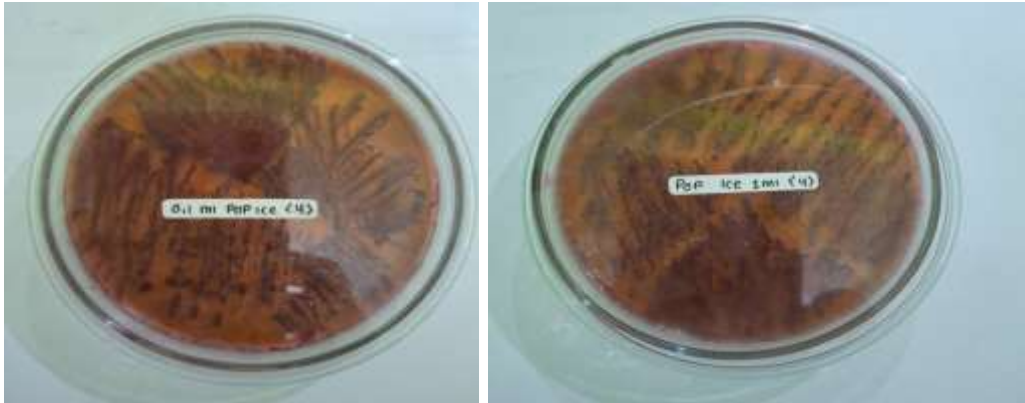
Hasil uji pelengkap menunjukkan bahwa kualitas mikrobiologi minuman berdasarkan parameter koliform tergolong baik yang ditandai berdasarkan hasil tidak ditemukan bakteri yang menjadi ciri bakteri koliform tersebut, akan tetapi ditemukan bakteri non koliform yang menandakan perlunya indikator pengawasan terhadap kebersihan bahan baku, peralatan, dan lingkungan pengolahan untuk mencegah peningkatan jumlah mikroorganisme yang dapat menurunkan kualitas produk.

### Uji Pelengkap (EMBA)



**Gambar 1. Hasil Uji Pelengkap (a) Lokasi 1 dan (b) Lokasi 2**

Pada uji pelengkap dengan penanaman pada media EMBA, hasil yang didapati dari 2 sampel positif tidak didapati koloni yang ditandai dengan warna hijau metalik sehingga pada uji terakhir dinyatakan negatif. Dari dua tahap pengujian awal yang positif hanya termasuk bakteri non fekal dan bukan termasuk jenis bakteri *Escherichia coli* dengan ditandai sampel negatif berwarna merah.



(c)

**Gambar 2. Hasil Uji Pelengkap (c) Lokasi 3**

Pada uji pelengkap menggunakan media EMBA, sampel pop ice tidak menunjukkan adanya koloni khas *Coliform* fekal tetapi menunjukkan adanya cemaran bakteri non fekal yang dapat disebabkan karena penggunaan alat masak yang tidak steril. Adanya bakteri non fekal, dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung bakteri dari lingkungan yang bukan berasal dari kontaminasi tinja, seperti bakteri tanah atau air alami. Hal ini menunjukkan bahwa tingkat pencemaran biologisnya rendah dan tidak ada indikasi kuat adanya kontaminasi fekal dari manusia atau hewan. Namun, tetap menunjukkan adanya keberadaan mikroorganisme umum di dalam sampel.

Pada uji pelengkap (*Completed Test*) menggunakan media EMBA. Media EMBA merupakan media selektif dan diferensial untuk isolasi dan pertumbuhan dari bakteri enterik dan mikroorganisme *E. coli* form. EMBA adalah media khusus pertumbuhan bakteri gram negatif. Eosin dan metylene blue sebagai pewarna dan membentuk kompleks dalam suasana asam yang menekan perkembangan bakteri Gram positif sehingga hanya bakteri Gram negatif yang tumbuh. Hasil dari uji pelengkap (*Completed Test*) ditunjukkan pada Gambar 1 dan 2. Pada media EMBA hasil dinyatakan positif jika terdapat pertumbuhan koloni bakteri sebaliknya jika tidak terdapat pertumbuhan koloni pada media EMBA hasil dinyatakan negatif.

Berdasarkan dari ke 7 sampel minuman yang digunakan tidak ditemukan ciri yang menunjukkan adanya bakteri *Coliform* fekal tetapi lebih kearah bakteri *Coliform* non fekal.

#### 4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN), seluruh sampel minuman yang diuji menunjukkan hasil positif pada tahap uji penduga, sedangkan pada tahap uji penegasan hanya sebagian sampel yang masih menunjukkan indikasi pertumbuhan bakteri. Namun, hasil uji pelengkap menggunakan media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) tidak menemukan koloni dengan karakteristik *Escherichia coli* maupun bakteri koliform fekal. Dengan demikian, ketujuh sampel minuman pinggir jalan yang diteliti di Kota Makassar dinyatakan tidak mengalami kontaminasi bakteri koliform fekal.

Meskipun demikian, ditemukannya bakteri non-koliform atau bakteri non-fekal pada beberapa sampel menunjukkan adanya kontaminasi mikroorganisme yang kemungkinan berasal dari lingkungan, bahan baku, air, peralatan, maupun proses pengolahan yang kurang higienis. Oleh karena itu, penerapan higiene dan sanitasi selama proses pembuatan, penyimpanan, serta penyajian minuman perlu terus

ditingkatkan untuk menjaga kualitas mikrobiologis produk dan mencegah terjadinya kontaminasi yang dapat membahayakan kesehatan konsumen.

## 5. Daftar Pustaka

- Fardiaz, S. (1993). Analisa mikrobiologi pangan. *Raja Grafindo Persada. Jakarta*.
- Hardinsyah, S. P., Santoso, B. I., & Pardede, S. O. (2011). Air Bagi Kesehatan. *Jakarta: Centra Communication*, 53–94.
- Hasruddin, H., & Pratiwi, N. (2015). Mikrobiologi Industri. *Penerbit Alfabeta: Bandung*.
- Jiwintarum, Y., Agrijanti, A., & Septiana, B. L. (2017). Coliform Most Probable Number (MPN) with Varieties of Media Volume Lactose Broth Single Strength (LBSS) and Lactose Broth Double Strength (LBDS). *Jurnal Kesehatan Prima*, 11(1), 11–17.
- Pelczar, M. J. (2006). dan ECS Chan. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*.
- Pratiwi, A. W. (2007). Kualitas bakteriologis air minum isi ulang di wilayah Kota Bogor. *Kesmas*, 2(2), 58–63.
- Rophi, A. H. (2022). Analisis mutu air secara mikrobiologi pada perlindungan mata air di Kelurahan Sentani Kota Distrik Sentani Kota Kabupaten Jayapura. *Bio-Lectura: Jurnal Pendidikan Biologi*, 9(1), 42–54.
- Sabila, N., & Setyaningrum, D. (2023). Analisis coliform dan colifecal pada air dari berbagai sumber menggunakan metode MPN (Most Probable Numbers). *J. Kim. Dan Rekayasa*, 3(2), 54–60.
- Safitri, L., & Djasfar, S. P. (2023). Analisis cemaran bakteri E. coli pada air kolam renang umum di Kabupaten Tangerang dengan Metode MPN (Most Probable Number). *Jurnal Medical Laboratory*, 2(2), 9–17.