

Uji Most Probable Number *Escherichia Coli* pada Susu Sapi Segar di KPSP Ijen Makmur, Licin, Banyuwangi

Most Probable Number of Escherichia Coli in Fresh Milk at KPSP Ijen Makmur, Licin Sub-District, Banyuwangi

Achmad Arby Wijaya^{1*}, Iwan Sahrial Hamid², Maya Nurwartanti Yunita³, Wiwiek Tyasningsih⁴, Ratih Novita Praja⁴

¹Mahasiswa, ²Departemen Ilmu Kedokteran Dasar Veteriner, ³Departemen Patologi Veteriner, ⁴Departemen Mikrobiologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, Kampus C Mulyorejo, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60115, Telp. (031)5993016, Fax. (031)59935015.

*Corresponding author: achmad.arby.wijaya-2016@fkh.unair.ac.id

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah total *E. coli* pada susu sapi segar di KPSP Ijen Makmur. Sampel yang digunakan sebanyak 16 sampel dari kelompok peternak sapi. Bakteri *E. coli* pada susu di uji menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) dengan seri 3 tabung. Melanjutkan uji MPN, 25 ml susu harus diencerkan terlebih dahulu, susu dituangkan ke dalam pengenceran *buffer pepton water 225ml* kemudian dihomogenisasi selama 2 menit. MPN terdiri dari uji pendugaan *coliform* terdapat gas dan keruh, uji pendugaan *faecal coliform* jika positif terdapat gas dan keruh, uji penegasan *E. coli* jika positif terdapat koloni hitam dengan atau hijau metalik kemudian dilanjutkan uji biokimia dengan syarat Indol positif berbentuk cincin merah, *Methyl red* positif berwarna merah, *Voges praskauer* negatif jika tidak ada perubahan warna, dan sitrat negatif akan berubah warna menjadi hijau. Hasil, menunjukkan dari 16 sampel susu segar yang digunakan terdapat 7 sampel susu segar yang melebihi batas cemaran *E.coli* atau <3 APM/ml. Kesimpulan, jumlah bakteri *E. coli* pada susu sapi perah di KPSP Ijen Makmur sebesar 43,75% dari jumlah total sampel yang melebihi batas maksimal cemaran.

Kata kunci: *E. coli*, susu segar, KPSP Ijen Makmur, *Most Probable Number*

Abstract

The study aimed to identify the total number of *E. coli* used in fresh cow milk in KPSP Ijen Makmur. The sample was used by as many as 16 samples from a group of cattle farmers. *E. coli* analyzed using *Most Probable Number* (MPN), 3 series of tubes. Before continuing the MPN test the milk must be diluted, 25 ml of milk was poured into the dilution of the 225ml peptone water buffered then homogenized for 2 minutes. MPN consist of presumptive *coliform* test if positive was found of gas and was cloudy, presumptive *faecal coliform* test positive was found in the gas and was cloudy, confirmed *E.coli* test if there was a black colony with or metallic green, continued by a biochemical test with red ring-positive Indole, *Methyl Red* positive the color is red, negative *Voges Paskauer* if there is no change in color, and negative citrate will turn green. Results showed that from the 16 samples of fresh milk used there were 7 samples of fresh milk that exceeded the contamination limit *E. coli* or < 3 apm /ml. Conclusion, number of *E. coli* in fresh milk at KPSP Ijen Makmur 43.75% of the total sample exceeded maximum contamination.

Keywords: *E. coli*, fresh milk, KPSP Ijen Makmur, *Most Probable Number*

Received: 10 Juni 2020

Revised: 13 Juli 2020

Accepted: 23 Agustus 2020

PENDAHULUAN

Susu sapi segar merupakan susu hasil pemerahan dari sapi perah yang kandungannya masih alami dan komponen-komponen didalamnya tidak dikurangi maupun ditambahi

dengan bahan lain (Standar Nasional Indonesia, 2011). Produk ternak merupakan sumber zat gizi utama untuk pertumbuhan dan kehidupan manusia, namun produk ternak akan menjadi tidak berguna dan membahayakan kesehatan apabila produk tersebut tercemar oleh bakteri



patogen (Bahri, 2008). Susu juga merupakan bahan organik yang menjadi sarana bagi pertumbuhan maupun penyebaran bakteri. Bakteri patogen akan mudah mencemari susu, selama penanganannya tidak memperhatikan kebersihan (Balía *et al.*, 2008). Menurut Hijriah *et al.* (2016), menyebutkan bahwa pencemaran pada susu selama proses pemerahan dapat berasal dari berbagai sumber, seperti kulit sapi, air, tanah, debu, peralatan. Kandungan pada susu merupakan nilai gizi yang tinggi, hal ini menyebabkan susu disukai oleh mikroba untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga dalam waktu yang sangat singkat susu dapat menjadi tidak layak dikonsumsi bila tidak ditangani dengan benar (Saleh, 2004).

Menurut Handayani dan Maya (2010), Pertumbuhan bakteri dalam susu dapat menyebabkan kualitas susu menurun dan menjadi tidak aman yang ditandai dengan rasa yang berbeda, aroma, warna, konsistensi dan tampilan susu yang tidak sewajarnya. *Streptococcus lactis*, *Aerobacter aerogenes*, *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri yang biasa terdapat dalam susu termasuk *E. coli* merupakan salah satu bakteri patogen yang mencemari susu dapat menyebabkan diare (Jawetz *et al.*, 2013; Suwito, 2016; Musawir *et al.*, 2016). Menurut Vimont (2006), *E. coli* telah menjadi mikroorganisme indikator penentuan jumlah bakteri, dan mutu susu tersebut dapat dijadikan sebagai indikator kualitas. Infeksi *E. coli* pada manusia dapat terjadi karena konsumsi susu yang terkontaminasi. Syarat susu yang aman untuk dikonsumsi yaitu dengan kontaminasi *E. coli* < 3 APM/ml (SNI, 2009).

Banyuwangi memiliki beberapa Koperasi Peternak Sapi Perah (KPSP) yang salah satunya berada di Kecamatan Licin. Koperasi Peternak Sapi Perah (KPSP) Ijen Makmur Kecamatan Banyuwangi belum pernah diadakan penelitian yang mengangkat tema mengenai cemaran bakteri *E. coli* pada susu sapi segar. Penanganan susu yang disetorkan di KPSP Ijen makmur terdapat beberapa peternak, sanitasi kandang sangat kurang dan terdapat pendapat masyarakat bahwa setelah minum susu sapi tersebut

mengalami diare. Keamanan pangan dari susu tersebut untuk masyarakat sekitar yang mengonsumsi harus diperlukan adanya pengujian kualitas susu di KPSP Ijen Makmur. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian agar mengetahui jumlah bakteri *E. coli* pada susu sapi segar di KPSP Ijen Makmur Kecamatan Licin, Kabupaten Banyuwangi.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di Laboratorium Unit Pelaksana Teknis (UPT) Pengujian Mutu dan Pengembangan Produk Kelautan dan Perikanan (PMP2KP) Banyuwangi. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2020. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian secara deskriptif dengan mengetahui bakteri *E. coli* pada susu sapi segar yang diuji menggunakan metode Angka Paling Memungkinkan (APM) (SNI, 2015). Pengambilan sampel dilakukan dengan *non-probability sampling* teknik *saturation sampling* dimana pengambilan sampel tidak dipilih secara acak (Pradika *et al.*, 2019).

Sampel susu sapi segar di ambil dari KPSP Ijen Makmur. Sampel yang diambil sebanyak 16 sampel dari seluruh peternak yang tergabung dalam KPSP Ijen Makmur dan tiap sampel yang diambil sebanyak 25 ml.

Sampel susu sapi segar yang telah diukur sebanyak 25 ml dimasukkan ke dalam wadah steril. Tambahkan larutan *Buffer Pepton Water* (BPW) 0.1% sebanyak 225 ml dalam wadah steril yang berisi sampel susu sapi segar kemudian dihomogenkan selama 1 menit, ini merupakan pengenceran 10^{-1} . Pengujian menggunakan seri 3 tabung. Pindahkan larutan pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 ml menggunakan pipet steril ke dalam 9 ml larutan BPW 0,1% untuk mendapatkan pengenceran 10^{-2} , kemudian pengenceran 10^{-3} dilakukan dengan cara yang sama. Uji pendugaan *coliform* dengan media *Lauryl Tryptose Broth* dengan cara inkubasi tabung selama 24 – 48 jam dengan temperatur 35°C . Uji pendugaan *coliform* tabung yang positif terdapat gas di dalam tabung durham.

Tabung yang positif dari hasil uji pendugaan *coliform* dipindahkan ke media *E. coli broth* kemudian diinkubasi selama 48 jam dengan temperature 44,5°C. Uji pendugaan *faecal coliform* ini tabung yang positif terdapat gas dan keruh di dalam tabung durham. Tabung yang positif dari hasil uji pendugaan *faecal coliform* dipindahkan ke media *Eosin Methylen Blue agar* kemudian di inkubasi dengan temperature 35°C selama 18 – 24 jam. *Eosin Methylen Blue agar* positif dilanjutkan uji biokimia yang terdiri dari uji Indol, *Methyl Red* (MR), *Voges Praskauer* (VP), sitrat (SNI 2332:2015).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji pendugaan *coliform* dari 16 sampel dinyatakan semua sampel positif. Uji pendugaan *coliform* ini tabung yang positif terdapat gas di dalam tabung durham. Pengenceran yang pertama (10^{-1}) dengan total 47 tabung positif dan 1 negatif, pengenceran kedua (10^{-2}) dengan total 34 tabung positif dan 14 tabung negatif, pengenceran ketiga (10^{-3}) dengan total 24 tabung positif dan 24 tabung negatif. Keseluruhan total tabung yang positif berjumlah 105 (Tabel 1).

Hasil uji pendugaan *faecal coliform* ini dinyatakan 16 sampel positif. Pengenceran pertama (10^{-1}) dengan total 40 tabung positif dan 7 negatif, pengenceran kedua (10^{-2}) dengan total 30 tabung positif dan 4 negatif, pengenceran ketiga (10^{-3}) dengan total 20 tabung positif dan 4 tabung negatif. Keseluruhan total tabung yang positif berjumlah 90 (Gambar 1).

Hasil uji penegasan *E. coli* ini terdapat 9 sampel positif dan 7 sampel negatif. Pada uji penegasan Pengenceran yang pertama (10^{-1}) dengan total 15 tabung positif dan 25 tabung negatif, pengenceran kedua (10^{-2}) dengan total 6 tabung positif dan 24 tabung negatif, pengenceran ketiga (10^{-3}) dengan total 6 tabung positif dan 14 tabung negatif. Keseluruhan total tabung yang positif berjumlah 27, tabung yang positif di lanjutkan uji biokimia.

Hasil uji biokimia ini terdapat 9 sampel, yg melebihi batas SNI terdapat 7 sampel dengan sampel positif biokimia dengan syarat bakteri *E. coli* memiliki hasil IMViC berupa Indol (+), MR

(+), VP (-), dan sitrat (-). Sampel C dan M pengenceran 10^{-1} total 2 tabung positif, pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} tabung positif kosong. Sampel E dan N dengan pengenceran 10^{-1} dengan total 1 tabung positif, pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} tabung positif kosong. Sampel J dengan pengenceran 10^{-1} dan 10^{-3} tabung positif kosong namun pengenceran 10^{-2} tabung yang positif berjumlah 1. Sampel O pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} masing – masing berjumlah 1 tabung positif. Sampel P dengan pengenceran 10^{-1} tabung yang positif kosong, untuk pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} hanya 1 tabung yang positif (Gambar 2).

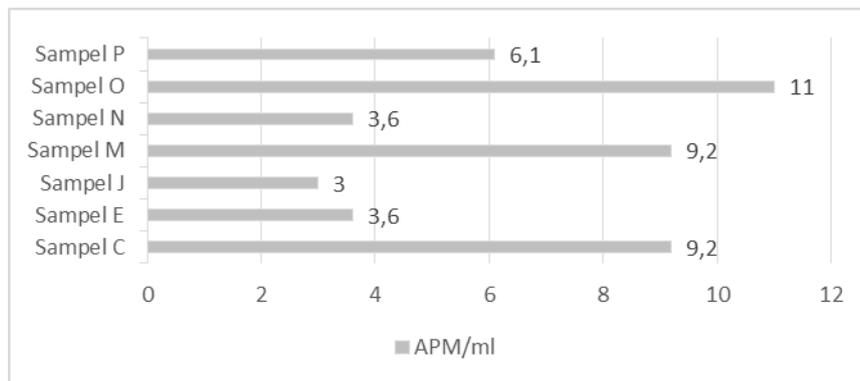
Menurut SNI (2015), setelah dilakukan uji pendugaan *coliform*, uji pendugaan *faecal coliform*, uji konfirmasi *E. coli* dan uji biokimia dengan syarat Indol (+), MR (+), VP *Praskauer* (-), sitrat (-) dilakukan pemeriksaan dengan tabel indeks APM tiga seri tabung, dari 16 sampel peternak KPSP Ijen makmur yang melebihi batas SNI atau > 3 APM/ml terdapat 7 sampel dan yang tidak melebihi batas SNI atau < 3 APM/ml terdapat 9 sampel.

Sampel yang positif uji biokimia terdapat sampel C, E, J, M, N, O, P. Sampel C dengan tabung positif (2 0 0) menghasilkan angka 9,2 APM/ml. Sampel E dengan tabung positif (1 0 0) menghasilkan angka 3,6 APM/ml. Sampel J dengan tabung positif (0 1 0) menghasilkan angka 3,0 APM/ml. Sampel M dengan tabung positif (2 0 0) menghasilkan angka 9,2 APM/ml. Sampel N dengan tabung positif (1 0 0) menghasilkan angka 3,6 APM/ml. Sampel O dengan tabung positif (1 1 1) menghasilkan angka 11 APM/ml. Sampel P dengan tabung positif (0 1 1) menghasilkan angka 6,1 APM/ml.

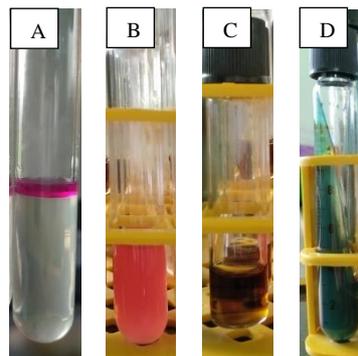
Mutu susu dapat ditentukan oleh jenis dan mikroba yang ada dalam susu, yang secara tidak langsung dapat mempengaruhi kelayakan dan daya simpan susu untuk di konsumsi (Handayani et al., 2010). Cemaran bakteri dalam jumlah tinggi tidak terlepas dari manajemen sanitasi pada saat pemerahan (Pruhitomo et al., 2015). Menurut Budiyanto dan Usmiati (2008), sanitasi atau manajemen yang baik meliputi alat pemerahan, kebersihan, keadaan ternak, lingkungan serta kebersihan sumber air dan penanganan susu setelah pemerahan.

Tabel 1. Hasil uji biokimia

Sampel	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
C	2	0	0
E	1	0	0
J	0	1	0
M	2	0	0
N	1	0	0
O	1	1	1
P	0	1	1



Gambar 1. Nilai indeks APM dari pembacaan tabel Indeks APM 3 seri tabung.



Gambar 2. Hasil uji (A) Indol positif, (B) MR positif, (C) VP negatif, (D) sitrat positif.

Pencemaran dapat terjadi karena sebelumnya tidak mencuci tangan, alat untuk pemerahan susu tidak dibersihkan atau disterilkan, terdapat limbah dikandang tempat pemerahan, serta sanitasi dan keadaan kandang yang kurang baik, seperti kandang yang lembab atau kurangnya sinar matahari, ternak tidak dimandikan sebelum dilakukan proses pemerahan, dan lantai kandang yang dibuat tidak miring sehingga memungkinkan adanya urin atau limbah cair dari ternak menggenang. Lantai kandang yang dibuat miring mampu membantu peternak ketika membersihkan kandang sehingga kandang tetap bersih dan kering tanpa genangan urin. Lantai yang miring sangat diperlukan untuk membantu peternak pada proses pembersihan kandang lebih

mudah dan menjaga lantai kandang tetap bersih atau kering (Maulida, 2013).

Menurut Wijastutik (2012), kualitas susu dan kesehatan dapat dipengaruhi oleh kebersihan telapak tangan pemerah karena telapak tangan dapat mengkontaminasi susu dan mengandung banyak bakteri saat pemerah jika dalam keadaan kotor dan tidak dibersihkan. Peternak sebagian besar menggunakan pakaian tidak dalam kondisi bersih biasanya hanya digantung di kandang kemudian dipakai terus menerus pagi maupun sore dan peternak memang mencuci tangan tapi tidak menggunakan sabun atau densifektan namun hanya menggunakan air, mengakibatkan masih adanya bakteri pada tangan pemerah. Air

yang digunakan belum tentu terjamin kebersihannya (Permatasari, 2018).

Menurut Sartika *et al.* (2005) cemaran bakteri *E. coli* diperoleh dari feses manusia dan feses hewan. Bakteri *E. coli* sendiri merupakan bakteri yang biasa digunakan untuk indikator adanya kontaminasi feses, dikarenakan *E. coli* berasal dari *colon*, tempat feses diproduksi. Jadi bakteri *E. coli* merupakan indikator adanya pencemaran feses. Pemeliharaan dan proses yang tidak higienis dapat mengakibatkan kontaminasi pada susu (Gustiani, 2009).

Bakteri yang melebihi batas SNI berisiko menyebabkan diare dan jika bakteri ini beredar ke sistem atau organ tubuh yang lain akan menyebabkan infeksi, bahkan bakteri *E. coli* jika sampai masuk ke saluran kencing maka mengakibatkan infeksi pada saluran kencing atau kemih (Sutiknowati, 2016). Susu dapat dilakukan dengan memperbaiki proses penanganan dalam pemerahan, penerimaan bahan baku atau susu segar dan penyimpanan untuk mencegah keracunan setelah meminum. (Jeffrey *et al.*, 2009).

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa terdapat 7 sampel susu segar dari 16 sampel pada susu sapi melebihi batas maksimum cemaran bakteri *E. coli* <3 APM/ml yang sudah ditetapkan SNI atau sebesar 43,75% dari total sampel yang melebihi batas SNI.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada seluruh Dosen Fakultas Kedokteran Hewan Psdku Banyuwangi yang telah memberi bimbingan serta arahan selama proses penelitian dan Peneliti mengucapkan terimakasih kepada pembimbing yang selalu memberikan bimbingan dan saran kepada peneliti sehingga peneliti dapat menyelesaikannya dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahri, S. (2008). Beberapa aspek keamanan pangan asal ternak di Indonesia. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 1(3), 225.
- Balia, R. L., Harlia, E & Suryanto, D. (2008). Jumlah bakteri total dan koliform pada susu segar peternakan sapi perah rakyat dan susu pasteurisasi tanpa kemasan di pedagang kaki lima. *Prosiding Prospek Industri Sapi Perah Menuju Perdagangan Bebas*, 2020, pp.322-325.
- Budiyanto, A., & Usmiati, S. (2008). Pemerahan susu secara higienis menggunakan alat perah sederhana. In *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner* (pp. 327-334).
- Gustiani, E. (2009). Pengendalian cemaran mikroba pada bahan pangan asal ternak (daging dan susu) mulai dari peternakan sampai dihidangkan. *Jurnal Litbang Pertanian*, 28(3), 96-100.
- Handayani, K. S., & Maya, P. (2010). Kesehatan ambing dan higien pemerahan di peternakan sapi perah desa pasir buncir kecamatan caringin. *Jurnal Penyuluhan Peternakan*, 5(1).
- Hijriah, P. F., Santoso, P. E., & Wanniatie, V. 2016. Status mikrobiologi (total plate count, coliform, dan *Escherichia coli*) susu kambing peranakan etawa (pe) di desa Sungai Langka kecamatan Gedong Tataan Kabupaten Pesawaran. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu*, 4(3), 217-221.
- Jawetz, E., J. Melnick, & E. Adelberg. (2013). *Medical Microbiology*. 26th Edition. Mc Graw Hill. 232-235.
- Jeffrey, T., Lejeune, & P.J.R. Schultz. (2009). Unpasteurized milk: A continued public health threat. *Food Safety. Clinical Infectious Dis*, (48), 93-100.

- Maulida, F.N. (2013). Tatalaksana Kesehatan Peternakan Sapi Perah Rakyat di Kecamatan Cisarua Kabupaten Bogor. Skripsi. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. 6-26.
- Musawir, M. A., & Arsin, A. A. (2016). Kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada botol susu dengan kejadian diare pada bayi. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 10(3), 146-153.
- Permatasari, R. I. (2018). Hygiene, Sanitation and Bacteriological Quality of Cow's Milk in Krajan Design, Gendro Village, Tukur Regency of Pasuruan District. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 10(4), 343-350.
- Pradika, A. Y., Chusniati, S., Purnama, M. T. E., Effendi, M. H., Yudhana, A. & Wibawati, P. A. (2019). Uji Total E. coli pada Susu Sapi Segar di Koperasi Peternak Sapi Perah (KPSP) Karyo Ngremboko Kecamatan Purwoharjo Kabupaten Banyuwangi. *Jurnal Medik Veteriner*, 2(1), 1-6.
- Prihutomo, S., Setiani, B. E., & Harjanti, D. W. (2015). Screening sumber cemaran bakteri pada kegiatan pemerahan susu di peternakan sapi perah rakyat Kabupaten Semarang. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 25(1), 66-71.
- Saleh, E. (2004). Teknologi Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak, Progam Studi Produksi Ternak, Fakultas Pertanian Universitas, Sumatera Utara, Digitized by USU digital library. 9(2), 77-85.
- Sartika, R. A. D., Indrawani, Y. M., & Sudiarti, T. (2005). Analisis Mikrobiologi E. coli O157:H7 Pada Hasil Olahan Hewan Sapi Dalam Proses Produksinya. *Makara Kesehatan*, 9(1), 27.
- SNI 01-2332.1. (2015). Cara Uji Mikrobiologi - Bagian 1: Penentuan Coliform Dan E. coli Pada Produk Perikanan. Badan Standarisasi Nasional Indonesia.
- SNI 3141. (2011). Susu Sapi Segar. Badan Standarisasi Nasional Indonesia.
- SNI 7388. (2009). Batas Maksimum Cemaran Bakteri dalam Pangan. Badan Standarisasi Nasional Indonesia.
- Sutiknowati, L. I. (2016). Bioindikator Pencemar, Bakteri E. coli. *Jurnal Oseana*, 41(4), 63-71.
- Suwito, W. (2016). Bakteri yang sering mencemari susu: deteksi, patogenesis, epidemiologi, dan cara pengendaliannya. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 29(3), 96-100.
- Vimont, A., Vernozy-Rozand, C., & Delignette-Muller, M. L. (2006). Isolation of E. coli O157: H7 and non-O157 STEC in different matrices: review of the most commonly used enrichment protocols. *Letters in applied microbiology*, 42(2), 102-108.
- Wijiastutik, D. (2012). Hubungan Higiene dan Sanitasi Pemerahan Susu Sapi dengan Total Plate Count pada Susu Sapi di Peternakan Sapi Perah Manggis Kabupaten Boyolali. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Volume 1 Nomer 2 Tahun 2012*. Universitas Diponegoro.
