

Deteksi dan Analisis Keamanan Pangan Nasi Kuning dari Pasar Tradisional Kota Malang Terhadap Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli*

Detection and Analysis of Food Safety of Yellow Rice from Traditional Markets in Malang City Against Escherichia coli Bacterial Contamination

Ismarotun Misbahul Alim^{1*)}, Faisal^{2**)}, Ahmad Syauqi^{3***)}

ABSTRAK

Nasi kuning merupakan hidangan khas tradisional Indonesia yang banyak dijual di pasar tradisional. Kandungan air serta nutrisi yang tinggi dalam makanan ini menjadikannya rentan terhadap kontaminasi mikroorganisme. Permasalahan keamanan pangan menjadi isu global, yang mana salah satu ancaman utamanya adalah kontaminasi mikroorganisme patogen, seperti *Escherichia coli*. Pasar tradisional yang berperan sebagai pusat kegiatan ekonomi masyarakat sering kali memiliki sanitasi lingkungan yang kurang memadai serta pengawasan kebersihan yang terbatas, sehingga berpotensi menjadi sumber kontaminasi bakteri. Dalam beberapa tahun terakhir, insiden keracunan makanan akibat kontaminasi *Escherichia coli* mengalami peningkatan dan memberikan dampak signifikan terhadap kesehatan masyarakat. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi keberadaan *Escherichia coli* pada nasi kuning yang dijual di pasar tradisional Kota Malang, guna mengetahui tingkat risiko pencemaran mikrobiologis. Penelitian ini menggunakan pendekatan deskriptif kuantitatif yang dilaksanakan melalui serangkaian uji laboratorium, dengan menerapkan metode *Most Probable Number* (MPN) untuk estimasi total jumlah bakteri. Selain itu, dilakukan pengujian lanjutan menggunakan media selektif *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) guna mendeteksi keberadaan bakteri target secara lebih spesifik dan pewarnaan gram untuk identifikasi karakteristik bakteri. Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* dari dua pedagang, masing-masing dua sampel, sehingga total diperoleh empat sampel. Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa semua sampel yang dianalisis terdeteksi mengandung bakteri *Escherichia coli* dengan nilai MPN berkisar antara 35 hingga >1.100 MPN/g, yang berarti melebihi batas maksimum yang diizinkan menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1096 Tahun 2011, yaitu harus 0 (negatif) untuk makanan dan minuman. Hasil uji konfirmasi memperlihatkan pertumbuhan koloni dengan warna hijau metalik pada media EMBA serta morfologi basil gram negatif. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa nasi kuning yang dijual di pasar tradisional Kota Malang telah mengalami kontaminasi mikrobiologis yang tinggi dan tidak sesuai dengan ketentuan standar keamanan dalam bidang pangan yang telah ditetapkan.

Kata Kunci: bakteri *Escherichia coli*, keamanan pangan, kontaminasi, nasi kuning, pasar tradisional.

ABSTRACT

Yellow rice is a traditional Indonesian dish that is widely sold in traditional markets. The high water and nutrient content in this food makes it susceptible to microorganism contamination. Food safety issues are a global issue, one of the main threats of which is contamination by pathogenic microorganisms, such as Escherichia coli. Traditional markets that act as centers of community economic activities often have inadequate environmental sanitation and limited cleanliness supervision, so they have the potential to become a source of bacterial contamination. In recent years, incidents of food poisoning due to Escherichia coli contamination have increased and have a significant impact on public health. This study aims to detect the presence of Escherichia coli in yellow rice sold in traditional markets in Malang City, in order to determine

*) Ismarotun Misbahul Alim., Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl. Mayjen Haryono 193 Malang, Jawa Timur 65144, Telp. 0341551932 e-mail: ismarotunmisbahul@gmail.com

**) Faisal, S.Si., M.Kes., Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl. Mayjen Haryono 193 Malang, Jawa Timur 65144, Telp. 0341551932 e-mail: faisal.abd@unisma.ac.id

***) Ir. Ahmad Syauqi, M.Si., Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Malang, Jl. Mayjen Haryono 193 Malang, Jawa Timur 65144, Telp. 0341551932 e-mail: syauqi.fmipa@unisma.ac.id

the level of risk of microbiological contamination. This study uses a quantitative descriptive approach carried out through a series of laboratory tests, by applying the Most Probable Number (MPN) method to estimate the total number of bacteria. In addition, further testing was carried out using selective Eosin Methylene Blue Agar (EMBA) media to detect the presence of target bacteria more specifically and gram staining to identify bacterial characteristics. Sampling was carried out by purposive sampling from two traders, two samples each, so that a total of four samples were obtained. Based on the research results, it is known that all analyzed samples were detected to contain *Escherichia coli* bacteria with MPN values ranging from 35 to >1,100 MPN/g, which means it exceeds the maximum limit permitted according to the Regulation of the Ministry of Health of the Republic of Indonesia Number 1096 of 2011, which must be 0 (negative) for food and beverages. The results of the confirmation test showed the growth of colonies with a metallic green color on EMBA media and gram-negative bacillus morphology. Based on these results, it can be concluded that yellow rice sold in traditional markets in Malang City has experienced high microbiological contamination and does not comply with the provisions of food safety standards that have been set.

Keywords: *Escherichia coli* bacteria, food safety, contamination, yellow rice, traditional markets.

Pendahuluan

Nasi kuning adalah hidangan tradisional Indonesia yang dikenal luas dan digemari oleh berbagai lapisan masyarakat. Hidangan ini sering disajikan pada acara seperti syukuran, perayaan ulang tahun, dan berbagai kegiatan adat. Di pasar tradisional Kota Malang, nasi kuning menjadi pilihan sarapan yang praktis dan digemari karena cita rasa serta kandungan gizinya. Nasi kuning, terbuat dari beras berbumbu kunyit, santan, dan lauk-pauk, memiliki kadar air serta nutrisi tinggi yang dapat mendukung pertumbuhan mikroorganisme jika tidak diolah atau disajikan dengan cara yang higienis [8].

Isu keamanan pangan menjadi perhatian utama di tingkat global, khususnya di Indonesia yang masih menghadapi kendala dalam penerapan standar kebersihan dan sanitasi makanan secara menyeluruh. Salah satu permasalahan utama dalam aspek ini adalah adanya kontaminasi mikroorganisme patogen seperti *Escherichia coli*. Infeksi akibat mikroorganisme ini dapat menyebabkan berbagai penyakit, mulai dari diare ringan hingga keracunan makanan yang serius [20].

Pasar tradisional menjadi salah satu pusat berlangsungnya aktivitas perekonomian masyarakat dan menjadi lokasi interaksi warga dari berbagai daerah. Namun, pasar kerap diklasifikasikan sebagai lingkungan yang kurang terorganisir, dengan kondisi kebersihan yang rendah, kumuh, tidak teratur, kurang bersih, bau, fasilitas penjualan yang belum memenuhi standar, serta suasana yang kurang mendukung kenyamanan konsumen [26]. Situasi tersebut tidak hanya mengurangi kenyamanan berbelanja, tetapi juga dapat berdampak pada kualitas produk, termasuk pangan yang dijual. Padatnya aktivitas, lemahnya pengawasan sanitasi, serta rendahnya tingkat kebersihan menjadikan pasar tradisional sebagai tempat yang memiliki potensi tinggi terhadap kontaminasi bakteri pada makanan. Penelitian terdahulu menunjukkan keberadaan bakteri patogen, termasuk *Escherichia coli*, di udara Pasar Dinoyo yang juga tergolong ke dalam kategori pasar tradisional. *Escherichia coli* yang dikenal sebagai bakteri indikator sanitasi karena kehadirannya mencerminkan kontaminasi feses, baik dari manusia maupun hewan, yang biasanya diakibatkan oleh buruknya praktik kebersihan dalam proses pengolahan makanan [17].

Beberapa tahun terakhir, jumlah kasus keracunan makanan yang disebabkan oleh kontaminasi bakteri *Escherichia coli* mengalami peningkatan dan berdampak signifikan terhadap kesehatan masyarakat [6]. Salah satu kasus terjadi pada Februari 2023, ketika lebih dari 500 mahasiswa Universitas Brawijaya (UB) mengalami keracunan makanan usai kegiatan Kemah Kerja Mahasiswa (KKM) di Wagir, Kabupaten Malang. Hasil uji laboratorium dari Dinas Kesehatan Kabupaten Malang menunjukkan bahwa makanan yang dikonsumsi

mengandung *Escherichia coli* melampaui batas maksimum yang diperbolehkan menurut standar keamanan pangan, sehingga menyebabkan gejala diare, muntah, hingga dehidrasi berat [22]. Temuan ini menunjukkan lemahnya pengawasan terhadap kebersihan pangan yang beredar di masyarakat dan memperkuat urgensi perlunya penelitian yang fokus pada deteksi dan analisis mikrobiologis terhadap makanan siap saji seperti nasi kuning. Hal ini penting untuk mengidentifikasi tingkat resiko kontaminasi dan memberikan edukasi kepada pedagang dan konsumen, serta mendorong praktik pengolahan makanan yang lebih higienis.

Material dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan sebagai berikut: tabung Erlenmeyer Pyrex, neraca analitik Durascale E233, batang pengaduk, botol duran, cawan petri 100 mm Pyrex, sendok steril, gelas beaker, rak tabung reaksi, vortex Bio-Rad 2000, pipet ukur, pipet tetes, micropipet 100-1000 μ Eppendorf Research Plus, blue tip, rak blue tip, ose, gelas objek, mikroskop elektron Olympus CX43, rak pewarnaan gram, bunsen, incubator hingga 60⁰ C WTB Binder, tabung durham, gelas ukur, autoklaf kapasitas 50 L Hirayama HVE-50, Laminar Air Flow (LAF), hot plate, magnetic stirrer Thermo Scientific, tabung reaksi Pyrex, cool box, spatula, gunting, kertas label, aluminium foil, kertas coklat, dan kapas.

Bahan yang digunakan sebagai berikut: sampel nasi kuning dari dua pedagang yang disajikan dalam wadah plastik mika dari pasar tradisional Kota Malang, alkohol, reagen Buffered Peptone Water (BPW), reagen Lauryl Sulfate Broth (LSB), reagen *Escherichia Coli* Broth (ECB), reagen Eosin Methylen Blue (EMB), larutan kristal violet, larutan iodine, larutan safranin, minyak emersi, dan aquadest steril.

Metode

Penelitian ini menerapkan pendekatan deskriptif berbasis laboratorium untuk mendeteksi keberadaan bakteri patogen dalam sampel nasi kuning yang dijual di pasar tradisional Kota Malang. Desain ini dipilih karena sesuai untuk analisis mikrobiologi dengan metode kuantitatif. Penelitian ini memiliki keterbatasan karena hanya mengukur suhu dan melakukan pengamatan melalui survei lapangan, tanpa mempertimbangkan faktor lingkungan lain yang mungkin turut memengaruhi kondisi di pasar. Dalam pengambilan sampel nasi kuning jenis metode yang digunakan yaitu *purposive sampling*.

Cara Kerja

Pembuatan Media

Media *Buffered Peptone Water* (BPW)

Media BPW disiapkan dengan cara melarutkan 1 gram reagen ke dalam 1000 ml aquades, kemudian dihomogenkan. Setelah larutan homogen, selanjutnya sebanyak 90 ml dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan 9 ml ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya semua wadah ditutup secara rapat kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan alat autoklaf dengan suhu 121° C selama ± 15 menit. Setelah media mencapai suhu ruang, media disimpan kedalam lemari pendingin bersuhu 2–8° C hingga waktu penggunaannya.

Media *Lauryl Sulfate Broth* (LSB)

Media LSB disiapkan dengan cara melarutkan 35,6 gram reagen LSB dalam 1000 ml aquades, kemudian dihomogenkan. Setelah larutan homogen, selanjutnya dipipet sebanyak 10 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi durham. Tabung reaksi ditutup secara rapat kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan alat autoklaf dengan suhu 121° C selama kurang

lebih 15 menit. Setelah media mencapai suhu ruang, media disimpan kedalam lemari pendingin bersuhu 2–8° C hingga waktu penggunaannya.

Media *Escherichia Coli Broth* (ECB)

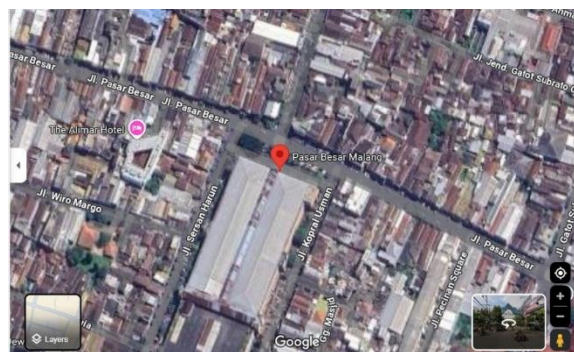
Media ECB disiapkan dengan cara melarutkan 37 gram reagen ECB dalam 1000 ml aquades, kemudian dihomogenkan. Larutan yang telah homogen selanjutnya dipipet sebanyak 10 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi durham. Tabung reaksi ditutup secara rapat kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan alat autoklaf dengan suhu 121° C selama kurang lebih 15 menit. Setelah media mencapai suhu ruang, media disimpan kedalam lemari pendingin bersuhu 2–8° C hingga waktu penggunaannya.

Media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA)

Media EMBA disiapkan dengan cara melarutkan 37,5 gram reagen EMBA dalam 1000 ml aquades kemudian dihomogenkan dengan cara dipanaskan hingga mendidih untuk memastikan larutan tercampur sempurna. Setelah larutan media terhomogenisasi, sebanyak kurang lebih 10 ml dituangkan ke dalam cawan steril, lalu dilakukan proses sterilisasi menggunakan alat autoklaf dengan suhu 121° C selama kurang lebih 15 menit. Setelah media mencapai suhu ruang, media disimpan kedalam lemari pendingin bersuhu 2–8° C hingga waktu penggunaannya.

Pengambilan Sampel

Pemilihan sampel pada penelitian ini menggunakan metode *purposive sampling*, di mana total empat sampel nasi kuning dikumpulkan dari dua pedagang yang berjualan di pasar tradisional Kota Malang, dengan masing-masing pedagang memberikan dua sampel. Waktu pengambilan sampel dilakukan pada rentang waktu antara pukul 06.00 sampai dengan 09.00 WIB. Sampel disimpan dalam *cool box* bersuhu 4° C untuk menjaga kualitas sebelum dianalisis.



Gambar 1. Peta Lokasi Pasar Tradisional Kota Malang [27]

Sterilisasi Alat

Proses sterilisasi alat dilakukan menggunakan autoklaf sesuai standar ISO 11138-1:2017 untuk menghilangkan mikroorganisme patogen seperti bakteri dan virus. Autoklaf bekerja dengan kombinasi panas dan tekanan tinggi guna memastikan alat bebas dari kontaminasi. Prosedur sterilisasi meliputi tahap persiapan, pengaturan suhu dan tekanan, pemuatan bahan, penutupan autoklaf, proses sterilisasi, pendinginan dan pembuangan uap, pemeriksaan hasil sterilisasi, serta pembersihan pasca sterilisasi [10].

Sterilisasi Meja Kerja

Meja kerja disterilkan terlebih dahulu menggunakan alkohol dan tisu sebelum pengambilan sampel dari *cool box*. Selama proses uji, tumpahan media atau cairan harus segera dibersihkan untuk menjaga kebersihan area kerja dan mencegah kontaminasi silang.

Preparasi Sampel

Tahap preparasi sampel diawali dengan mengambil bagian dari nasi kuning, kemudian dihaluskan menggunakan alat yang steril hingga mencapai tekstur yang cukup hancur dan homogen untuk analisis. Selanjutnya, sebanyak 10 gram sampel yang telah dihaluskan ditimbang menggunakan neraca analitik, lalu dimasukkan ke dalam 90 ml media BPW. Seluruh proses dilakukan di dekat nyala api lampu bunsen guna menjaga kondisi aseptik dan mencegah kontaminasi. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan hingga merata untuk menghasilkan suspensi yang representatif sebagai bahan analisis mikrobiologi.

Tahap Uji

Uji Praduga (*Presumptive Test*)

Sebanyak 10 gram sampel dihancurkan dan dicampurkan secara homogen dalam 90 ml larutan BPW 0,1%. Setelah itu, dilakukan proses pengenceran bertingkat mulai dari 10^{-1} hingga 10^{-3} . Sebanyak 1 ml larutan dari tiap tingkat pengenceran dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang mengandung 9 ml media LSB beserta tabung durham di dalamnya. Selanjutnya, seluruh tabung diinkubasikan dalam rentang waktu 24 hingga 48 jam dengan suhu $35-37^{\circ}\text{C}$.

Uji Penegasan (*Confirmed Test*)

Tahapan uji penegasan dilakukan pada sampel yang menunjukkan hasil positif pada pengujian praduga sebelumnya. Kultur dari media LSB kemudian diinokulasikan ke dalam media ECB yang telah dilengkapi dengan durham, menggunakan jarum inokulasi yang telah disterilkan. Selanjutnya, seluruh tabung diinkubasikan dalam rentang waktu 24 hingga 48 jam dengan suhu $35-37^{\circ}\text{C}$.

Uji Pelengkap (*Completed Test*)

Pengujian pelengkap dilakukan pada sampel yang memberikan hasil positif pada tahap uji penegas sebelumnya guna memastikan keberadaan *Escherichia coli*. Kultur dari media ECB dipindahkan ke dalam media EMBA dengan menggunakan jarum inokulasi yang telah disterilkan secara *streak plate* [4], selanjutnya inkubasi dilakukan dalam waktu 24 jam dengan suhu 42°C . Munculnya koloni dengan kilap hijau metalik menjadi indikator adanya *Escherichia coli*. Selanjutnya, dilakukan pewarnaan gram sebagai tahap tambahan untuk mengidentifikasi morfologi serta sifat bakteri yang tumbuh.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk menentukan apakah bakteri hasil isolasi dari media EMBA termasuk gram positif atau gram negatif. Langkah awal dimulai dengan membuat sediaan melalui pengambilan koloni bakteri yang dioleskan pada kaca objek, kemudian dilakukan fiksasi dan proses pewarnaan secara bertahap, dimulai dengan kristal violet sebagai pewarna primer, diikuti oleh larutan iodine sebagai zat pengikat, kemudian alkohol 98% sebagai agen peluntur, dan diakhiri dengan pemberian safranin yang berfungsi sebagai warna pembanding. Setelah pewarnaan selesai, sediaan diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi.

Hasil dan Diskusi

Analisis dilakukan secara mikrobiologis menggunakan pendekatan metode *Most Probable Number* (MPN), yang dianggap sebagai metode yang tepat dalam mendeteksi sekaligus mengestimasi jumlah *Escherichia coli* pada sampel berbentuk padat secara akurat. Metode ini direkomendasikan dalam standar nasional sebagai pedoman pemeriksaan mikrobiologi pada produk pangan, sebagaimana tercantum dalam SNI 2897:2008 [1]. Metode MPN sesuai diterapkan pada bahan pangan yang tidak memungkinkan untuk disaring atau dihitung langsung, karena kompleksitas matriks sampelnya [5]. Prosedur dalam metode MPN terdiri atas tiga tahap, yaitu: uji praduga sebagai tahap awal untuk mendeteksi *coliform*, uji penegasan dilakukan untuk mengonfirmasi keberadaan bakteri *Escherichia coli*, dan uji pelengkap guna menentukan secara pasti jenis bakteri yang ditemukan.

Uji Praduga (*Presumptive Test*)

Tahapan pertama dalam metode MPN adalah uji praduga, yang bertujuan untuk mendeteksi keberadaan bakteri *coliform* melalui proses fermentasi laktosa dalam media LSB. Pada penelitian ini menggunakan rangkaian tabung dengan seri 3–3–3, di mana proses inkubasi berlangsung pada rentang waktu 24 hingga 48 jam dengan suhu 35 hingga 37⁰ C. Media LSB dimanfaatkan sebagai sarana untuk mendeteksi keberadaan bakteri *coliform* dalam sampel makanan maupun air, dan juga memiliki kemampuan selektif dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme *non coliform*. Bakteri *coliform* akan memfermentasi laktosa yang terdapat pada media sehingga dapat menghasilkan gelembung gas, yang kemudian tertahan di dalam tabung durham selama periode inkubasi 48 jam dengan suhu 35 - 37⁰ C [13].

Tabel 1. Hasil Uji Praduga Terhadap Sampel Nasi Kuning Menggunakan Media LSB

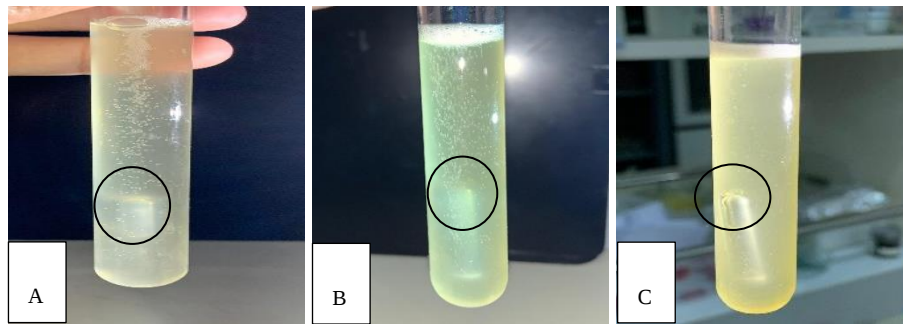
	Kode Sampel	Tabung 3-3-3			Indeks MPN/g	Keterangan
		0,1	0,01	0,001		
Pedagang 1	01	3	2	3	290	Melebihi Ambang Batas
	02	3	3	3	> 1.100	Melebihi Ambang Batas
Pedagang 2	03	3	0	2	64	Melebihi Ambang Batas
	04	3	3	3	> 1.100	Melebihi Ambang Batas

Keterangan:

- Angka yang tercantum dalam tabel menunjukkan jumlah tabung durham yang menandakan reaksi positif pada tahap uji praduga, ditandai oleh terbentuknya gelembung gas.
- 0,1 mewakili pengenceran 10⁻¹; 0,01 untuk pengenceran 10⁻²; dan 0,001 untuk pengenceran 10⁻³.

Semua sampel nasi kuning menunjukkan reaksi positif, yang ditunjukkan dengan perubahan media menjadi keruh serta adanya akumulasi gas di dalam tabung durham, sebagai indikasi terjadinya fermentasi laktosa oleh bakteri *coliform* (Gambar 2). Fermentasi ini terjadi karena aktivitas enzim laktase yang dimiliki oleh bakteri *coliform*, yang mengubah laktosa menjadi energi, dengan produk samping berupa gas karbondioksida (CO₂) dan hidrogen (H₂) sebagai indikator terjadinya fermentasi. Pembentukan gas dan asam tersebut merupakan

karakteristik khas pada media LSB. Tingginya populasi bakteri *coliform* dapat mencerminkan meningkatnya kemungkinan keberadaan bakteri patogen lainnya [23].



Gambar 2. Uji praduga positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung dan perubahan warna pada media menjadi keruh, sebagaimana ditunjukkan pada bagian yang diberi lingkaran

A : hasil positif dari 10^{-1} B : hasil positif dari 10^{-2} C : hasil positif dari 10^{-3}

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan tabel MPN, tingkat kontaminasi yang diperoleh adalah sebagai berikut: sampel nomor 3 sebesar 64 MPN/g, sampel nomor 1 sebesar 290 MPN/g, sedangkan sampel nomor 2 dan 4 menunjukkan angka >1.100 MPN/g. Nilai tersebut secara signifikan melebihi ambang batas yang telah ditetapkan sesuai dengan ketentuan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1096/MENKES/PER/VI/2011, yang menetapkan bahwa keberadaan *Escherichia coli* pada makanan dan minuman harus 0 (negatif) [12]. Temuan ini mengindikasikan bahwa seluruh sampel yang diuji tidak memenuhi persyaratan mutu mikrobiologis pangan yang telah ditetapkan.

Uji Penegasan (*Confirmed Test*)

Sampel yang teridentifikasi positif pada uji sebelumnya kemudian diuji kembali melalui tahap uji penegasan menggunakan media ECB, dengan inkubasi dilakukan pada rentang suhu 35 hingga 37° C selama 24 sampai 48 jam. Tahapan ini bertujuan untuk menegaskan bahwa reaksi positif yang terjadi pada uji praduga memang disebabkan oleh aktivitas fermentasi laktosa oleh bakteri *coliform*. Media ECB bersifat selektif terhadap *Escherichia coli* dan mampu menghambat pertumbuhan mikroorganisme gram positif. Proses ini memastikan bahwa gas yang terbentuk merupakan hasil metabolisme *Escherichia coli*, bukan berasal dari bakteri lain yang tidak memproduksi gas pada media tersebut [9]. Keberadaan *Escherichia coli* ditunjukkan melalui adanya gelembung gas didalam durham serta perubahan media menjadi keruh akibat proses fermentasi laktosa (Gambar 3).

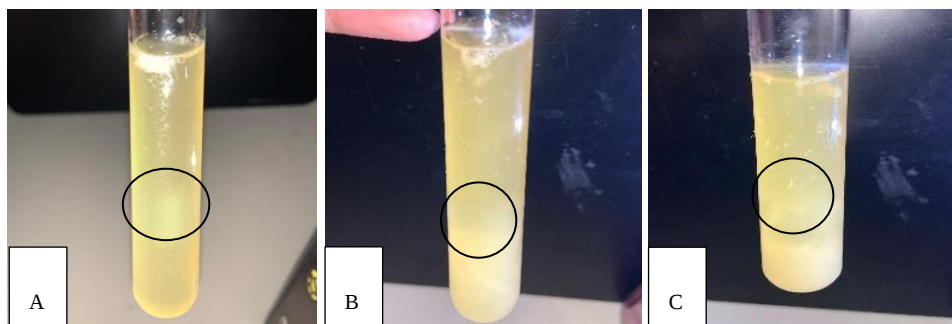
Tabel 2. Hasil Uji Penegasan Terhadap Sampel Nasi Kuning Menggunakan Media ECB

	Kode Sampel	Tabung 3-3-3			Indeks MPN/g	Keterangan
		0,1	0,01	0,001		
Pedagang 1	01	2	2	2	35	Melebihi Ambang Batas
	02	2	2	2	35	Melebihi Ambang Batas

Pedagang 2	03	3	0	2	64	Melebihi Ambang Batas
	04	3	3	3	> 1.100	Melebihi Ambang Batas

Keterangan:

- Angka yang tercantum dalam tabel menunjukkan jumlah tabung durham yang menandakan reaksi positif pada tahap uji penegasan, ditandai oleh terbentuknya gelembung gas.
- 0,1 mewakili pengenceran 10^{-1} ; 0,01 untuk pengenceran 10^{-2} ; dan 0,001 untuk pengenceran 10^{-3} .



Gambar 3. Uji penegas positif yang ditandai dengan terbentuknya gelembung dan perubahan warna pada media menjadi keruh, sebagaimana ditunjukkan pada bagian yang diberi lingkaran.

A : hasil positif dari 10^{-1} B : hasil positif dari 10^{-2} C : hasil positif dari 10^{-3}

Keempat sampel nasi kuning menunjukkan hasil positif pada uji penegasan. Nilai indeks MPN yang diperoleh adalah: 35 MPN/g (sampel 1 dan 2), 64 MPN/g (sampel 3), dan >1.100 MPN/g (sampel 4). Hasil ini menegaskan bahwa seluruh sampel mengandung *Escherichia coli* dalam jumlah tinggi, yang menunjukkan kualitas mikrobiologis yang buruk.

Uji Pelengkap (*Completed Test*)

Uji MPN dilakukan sampai tahap akhir (pelengkap) dikarenakan pada uji praduga dan penegasan didapatkan hasil positif yang ditandai dengan tabung durham yang terisi udara melebihi 10% dari kapasitasnya [21]. Tahap pelengkap dilakukan terhadap sampel yang memberikan hasil positif pada tahap uji sebelumnya, yaitu dengan cara menanamkan biakan positif dari media ECB ke dalam media EMBA menggunakan metode gores (*streak plate*). Selanjutnya, proses inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu $\pm 42^{\circ}\text{C}$.

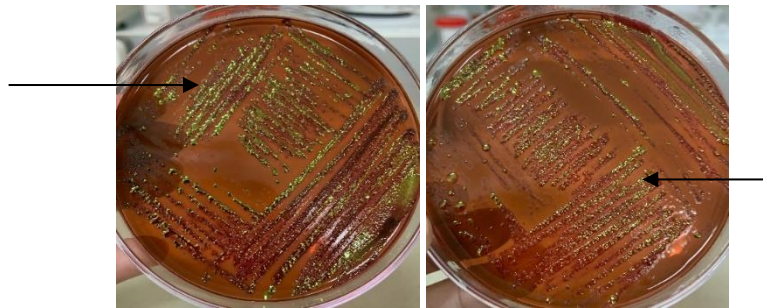
Tabel 3. Hasil Uji Pelengkap Terhadap Sampel Nasi Kuning Menggunakan Media EMBA

	Kode Sampel	Jumlah Cawan Petri Positif (+)
Pedagang 1	01	4
	02	6
Pedagang 2	03	5
	04	9

Keterangan:

- Nilai yang tercantum dalam tabel menunjukkan jumlah cawan petri yang memberikan hasil positif pada uji pelengkap.

Media EMBA memiliki sifat selektif dalam mendukung pertumbuhan bakteri gram negatif dan bersifat diferensial dalam mendeteksi aktivitas fermentasi laktosa. Koloni dari bakteri *Escherichia coli* yang berkembang pada media EMBA memperlihatkan tampilan khas berupa kilap hijau metalik sebagai akibat dari fermentasi laktosa yang kuat oleh *Escherichia coli* [19]. Seluruh sampel yang diuji dalam penelitian ini memperlihatkan pertumbuhan koloni dengan kilau logam hijau pada permukaan media, yang menguatkan keberadaan *Escherichia coli* (Gambar 4).

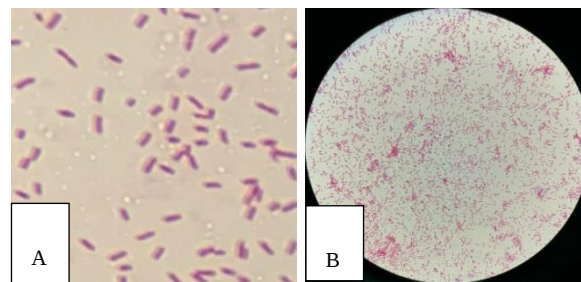


Gambar 4. Pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* ditandai dengan munculnya warna khas hijau metalik pada permukaan media EMBA, seperti yang ditunjukkan oleh tanda panah.

Media EMBA berfungsi sebagai alat uji kualitatif konfirmatif untuk mengidentifikasi keberadaan *Escherichia coli* berdasarkan karakteristik koloni seperti warna gelap dan kilap logam hijau metalik. Media ini tidak digunakan untuk menghitung jumlah bakteri secara kuantitatif (seperti MPN/g), melainkan untuk mengonfirmasi keberadaan bakteri tersebut berdasarkan karakteristik koloni yang tumbuh, seperti bentuk, warna, dan kilap khas. Meskipun tidak menghasilkan data angka yang spesifik, uji EMBA tetap penting karena memberikan bukti visual langsung yang mendukung hasil pengujian sebelumnya. Oleh karena itu, kombinasi antara metode MPN yang bersifat kuantitatif (menunjukkan jumlah bakteri dalam satuan MPN/g) dan hasil pengamatan pada media EMBA yang bersifat kualitatif sangat penting dan saling melengkapi. Keduanya memberikan dasar yang kuat untuk menyimpulkan bahwa makanan yang diuji memang mengalami kontaminasi *Escherichia coli* dalam kadar yang signifikan dan melebihi ambang batas yang diperbolehkan. Kombinasi metode MPN dan uji EMBA memberikan bukti kuat bahwa seluruh sampel nasi kuning yang diuji mengandung *Escherichia coli* dalam jumlah tinggi, dengan nilai berkisar antara 35 MPN/g hingga >1.100 MPN/g, yang telah melampaui ambang batas yang diperbolehkan.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilaksanakan sebagai langkah konfirmasi guna mengidentifikasi karakteristik morfologi dan sifat dinding sel bakteri yang telah berkembang apakah termasuk dalam kelompok gram positif atau gram negatif. Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa seluruh sampel memiliki morfologi sel berbentuk batang (basil) dan berwarna merah muda, yang merupakan ciri khas dari *Escherichia coli* sebagai bakteri gram negatif (Gambar 5).



Gambar 5. Hasil uji pewarnaan gram yang diamati di bawah mikroskop menunjukkan bahwa bakteri berbentuk batang (basil) dan berwarna merah muda merupakan *Escherichia coli*
A : gambar morfologi *Escherichia coli* B : gambar keseluruhan *Escherichia coli*

Bakteri gram negatif kehilangan kemampuan untuk mempertahankan pewarna kristal violet setelah proses dekolorisasi, sehingga akan menyerap pewarna safranin dan tampak berwarna merah atau merah muda saat diamati di bawah mikroskop. Kondisi ini terjadi karena dinding sel pada bakteri gram negatif hanya tersusun atas lapisan peptidoglikan yang tipis serta membran luar berupa lipopolisakarida yang mudah rusak oleh perlakuan alkohol [23]. Temuan ini semakin memperkuat identifikasi bahwa koloni yang tumbuh pada media EMBA merupakan *Escherichia coli*.

Dugaan Faktor Lingkungan terhadap Tingkat Pencemaran *Escherichia coli* pada Nasi Kuning

Sanitasi tempat umum merupakan permasalahan kesehatan masyarakat yang cukup mendesak, mengingat tempat umum menjadi titik pertemuan berbagai lapisan masyarakat. Salah satu komponen penting dalam penyehatan lingkungan adalah pasar. Apabila pasar tidak memenuhi standar sanitasi lingkungan, maka hal tersebut dapat meningkatkan risiko penularan penyakit yang berbasis lingkungan [26].

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri dari kelompok *coliform* yang secara alami hidup di dalam feces manusia maupun hewan, sehingga sering disebut sebagai *coliform* fekal. Bakteri ini bersifat gram negatif, berbentuk batang (basil), dan tidak membentuk spora. Keberadaan *Escherichia coli* yang umum ditemukan dalam air dan makanan menunjukkan adanya indikasi pencemaran feces, baik yang berasal dari manusia maupun hewan. Kehadiran *Escherichia coli* dalam jumlah tinggi pada makanan siap saji merupakan indikator sanitasi lingkungan yang buruk [18]. Kontaminasi dapat berasal dari berbagai sumber, seperti air pencuci bahan yang tidak higienis, alat penyajian yang kotor, kebersihan pribadi penjual yang rendah, serta penyimpanan makanan pada suhu yang tidak sesuai standar. Faktor-faktor ini meningkatkan risiko keberadaan bakteri patogen dan menyebabkan makanan tidak memenuhi standar kesehatan.

Hasil penelitian menunjukkan seluruh sampel nasi kuning dari pasar tradisional Kota Malang positif terkontaminasi *Escherichia coli* melebihi ambang batas, mengindikasikan lemahnya pengawasan kebersihan di tingkat penjual eceran. Kondisi ini diperparah dengan praktik penjual yang tidak menggunakan sarung tangan saat mengambil makanan, memungkinkan terjadinya kontaminasi silang dari tangan ke makanan. Padahal, penggunaan sarung tangan terbukti penting dalam meminimalkan perpindahan mikroorganisme. Hal ini mencerminkan rendahnya pengetahuan penjual mengenai hygiene pribadi dan pentingnya alat pelindung [25].

Data mencatat sejumlah kasus keracunan makanan berasal dari jajanan, dan paparan *Escherichia coli* patogen dapat menyebabkan gangguan pencernaan serius, terutama pada kelompok rentan [2]. WHO (2019) melaporkan 1,7 miliar kasus diare dengan 760.000 kematian anak di bawah 5 tahun setiap tahunnya [7]. Penelitian di Pasar Ramai Kota Medan juga menemukan kontaminasi *Escherichia coli* pada 2 dari 30 sampel jajanan, menandakan lemahnya higiene penjual [16].

Lingkungan pasar yang tidak mendukung, seperti genangan air, lokasi berdekatan dengan sampah dan penjual daging, serta kurangnya fasilitas cuci tangan, memperbesar risiko kontaminasi. Kondisi higiene dan sanitasi yang buruk di pasar tradisional turut meningkatkan risiko pencemaran mikroba, termasuk *Escherichia coli* [11]. Walau penelitian tersebut tidak secara spesifik meneliti nasi kuning, temuan tersebut relevan karena makanan serupa juga dijual dalam kondisi terbuka dan terpapar lingkungan yang tidak higienis.

Hasil observasi menunjukkan suhu lingkungan di pasar tradisional Kota Malang berada pada kisaran 32,7° C, termasuk dalam rentang yang memungkinkan *Escherichia coli* tetap hidup dan berkembang biak. Suhu ini mendekati suhu optimum pertumbuhan *Escherichia coli*, yakni sekitar 37° C [24], sehingga meningkatkan risiko kontaminasi makanan, terutama yang dijual dalam kondisi terbuka.

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pada suhu 30° C, populasi *Escherichia coli* dapat meningkat dari 2×10^2 CFU/g menjadi 7×10^2 CFU/g dalam 48 jam, sedangkan pada suhu 10° C tidak terdeteksi pertumbuhan bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa suhu rendah efektif menghambat pertumbuhan *Escherichia coli*, meskipun bakteri dapat kembali aktif saat suhu meningkat. Sebagai bakteri mesofilik, *Escherichia coli* tumbuh optimal pada suhu 37° C, dengan rentang pertumbuhan antara 10° C hingga 45° C, sehingga penyimpanan makanan pada suhu ruang tanpa pengawetan meningkatkan risiko kontaminasi [14].

Selain suhu, lama pemajangan makanan juga memengaruhi tingkat pertumbuhan mikroba. Hasil pengamatan menunjukkan nasi kuning dijual dari pukul 06.00 hingga 09.00 pagi, selama kurang lebih 3 jam. Dalam kondisi ini, bakteri dapat mengalami pembelahan setiap 30 menit [15], dan total populasi bakteri dapat meningkat seratus kali lipat jika makanan dibiarkan pada suhu ruang dalam waktu lama [3]. Dengan demikian, waktu pemajangan yang cukup lama di lingkungan pasar yang lembap dan padat mempercepat laju pertumbuhan bakteri, termasuk *Escherichia coli*, pada makanan.

Kesimpulan

1. Sampel nasi kuning yang diperiksa menunjukkan hasil positif terhadap keberadaan *Escherichia coli* berdasarkan uji MPN praduga, penegas, dan pelengkap.
2. Nilai *coliform* yang diperoleh berkisar antara 35 sel/g hingga >1.100 sel/g. Angka tersebut menunjukkan bahwa jumlah cemaran mikroba telah melebihi ambang batas yang ditetapkan dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1096/MENKES/PER/VI/2011 bahwa keberadaan *Escherichia coli* pada makanan dan minuman harus 0 (negatif).
3. Hasil ini mengindikasikan bahwa nasi kuning yang dijual di pasar tradisional memiliki kontaminasi mikrobiologis yang signifikan karena mengandung cemaran *Escherichia coli* yang tinggi, sehingga berisiko menimbulkan masalah kesehatan masyarakat, terutama yang berkaitan dengan gangguan saluran pencernaan.
4. Cemaran *Escherichia coli* pada makanan siap saji diduga kuat berasal dari sanitasi lingkungan yang buruk, peralatan masak yang tidak higienis, air yang digunakan pada waktu produksi, serta kurangnya kesadaran penjual akan praktik higiene.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada seluruh staf Laboratorium Terpadu Universitas Islam Malang atas dukungan teknis yang telah diberikan. Penghargaan juga disampaikan kepada dosen pembimbing serta seluruh jajaran Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, serta seluruh pihak yang telah memberikan berkontribusi dalam berbagai hal, sehingga pelaksanaan penelitian ini dapat berjalan lancar dan mencapai hasil yang optimal.

Daftar Pustaka

- [1] Badan Standardisasi Nasional. 2008. *SNI 2897:2008 – Metode Pengujian Mikrobiologi untuk Makanan*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- [2] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. *Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 14 Tahun 2014 tentang Organisasi dan Tata Kerja Unit Pelaksana Teknis di Lingkungan Badan Pengawas Obat dan Makanan*. Jakarta: BPOM.
- [3] Chye, F.Y., A. Abdullah, and M.K. Ayob. 2004. "Bacteriological Quality and Safety of Raw Milk in Malaysia." *Journal of Food Microbiology* 131:30–39.
- [4] Faisal. (2023). *Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Malang: Laboratorium FMIPA Universitas Islam Malang.
- [5] Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- [6] Food and Agriculture Organization. 2011. *Preventing E. coli in Food*. Rome: Food and Agriculture Organization (FAO). Retrieved January 9, 2025 (http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/fcc/news/1_FAO_Preventing-E.Coli-inFood_FCC_2011.06.23.pdf).
- [7] Gede, D., Y. Apriani, D. Made, F. Sastra Putri, N.S. Widiyari, S. Advaita, M. Tabanan, et al. 2022. "Gambaran Tingkat Pengetahuan Ibu Tentang Diare pada Balita di Kelurahan Baler Bale Agung Kabupaten Jembrana Tahun 2021." *Journal of Health and Medical Science* 1(3).
- [8] Hamka, Sulistyo Prabowo, Nur Amaliah, Amalia Nur Kumalaningrum, Panggulu Ahmad Ramadhani Utoro, Christina Mumpuni Erawati, Gevbry Ranti Ramadhani Simamora, Jefri Pandu Hidayat, Fadeli Muhammad Habibie, Sukmiyati Agustin, Anggela, Yuliani, Ni'matus Sholihah, Agustu Sholeh Pujokaroni, Maghfirotn Marta Banin, Anton Rahmadi, Miftakhur Rohmah, Gina Zada Calosa, Maulida Rachmawati, Septiana Sulistiawati, Bagus Fajar Pamungkas, Friskila Agnesia Dora, Siti Munfarida, Ita Zuraida, Wywid Elvana, Wiwit Murdianto, Marwati, Yulian Andriyani, dan Rahmi Azzahra. (2024). *Kuliner Borneo*. Yogyakarta: Deepublish.
- [9] Herlina, A., I.A. Nugraheni, M.N. Sutopo, and N.S. Anindita. 2023. "Deteksi Bakteri Coliform dan *Escherichia coli* Menggunakan Metode Most Probable Number (MPN) pada Air Sumur Penduduk." *Prosiding Seminar Nasional LPPM Universitas Aisyiyah Yogyakarta*.
- [10] International Organization for Standardization (ISO). 2017. *ISO 11138-1:2017 Sterilization of Health Care Products—Biological Indicators—Part 1: General Requirements*. Geneva: ISO.
- [11] Islamy, G.P., S. Sumarmi, and F. Farapti. 2018. "Analisis Higiene Sanitasi dan Keamanan Makanan Jajanan di Pasar Besar Kota Malang." *Amerta Nutrition* 2(1):29–36.

- [12] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1096/Menkes/Per/VI/2011 tentang Higiene Sanitasi Jasaboga*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- [13] Lase, N. H. 2021. *Uji Angka Paling Mungkin (APM) E. coli pada Tepung Beras di Balai Besar Pengawas Obat dan Makanan (BBPOM) Bandar Lampung* (Laporan Tugas Akhir Mahasiswa, Politeknik Negeri Lampung).
- [14] Lestari, N.P.I. and A.A.A.P. Permatasari. 2018. "Pengaruh Suhu dan Waktu Penyimpanan terhadap Populasi Total Bakteri, Coliform, dan *Escherichia coli* pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*).” *Jurnal Media Sains* 2(2):96–103.
- [15] Morandi, S., M. Brasca, P. Alfieri, R. Lodi, and A. Tamburini. 2005. "Influence of pH and Temperature on the Growth of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*.” *Lait Dairy Journal* 85:181–192.
- [16] Napitupulu, L.H., E. Lasriany, and M. Crystandy. 2019. "Analisis Hygiene Sanitasi Tempat Penjualan Makanan dan Bakteri *Escherichia coli* pada Jajanan Manisan di Pasar Ramai Kota Medan.” *Jurnal Higiene dan Sanitasi* 5(1).
- [17] Prabawati, P. A. (2021). *Keanekaragaman Koloni Bakteri di Pasar Modern Dinoyo Terpadu (MDT) Kota Malang* (Skripsi, Universitas Islam Malang).
- [18] Rahmadani, A. F., Faisal, F., Ramadhan, M., & Prasetyo, H. D. (2023). Isolasi dan Identifikasi Awal Bakteri Patogen pada Kolam Maturasi IPLT Supit Urang Kota Malang. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Sains Unisma Malang*, 1(2), 41.
- [19] Sabudi, I.M.N.G. and M.A. Hendrayana. 2017. "Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* O157 dengan Media Sorbitol MacConkey Agar (SMAC) pada Buah Semangka Potongan dari Pedagang Buah Kaki Lima di Kota Denpasar.” *Jurnal Medika* 6(7):1–7.
- [20] Sari, M., D. Pratama, and A. Hidayah. 2021. "Studi Kontaminasi Bakteri pada Makanan Jalanan di Indonesia.” *Jurnal Kesehatan Lingkungan* 12(1):45–53.
- [21] Syauqi, A. (2017). *Mikrobiologi Lingkungan Peranan Mikroorganisme dalam Kehidupan*. Yogyakarta : Penerbit Andi.
- [22] Tempo.co. 2023. "Ratusan Mahasiswa UB Keracunan, Dinkes: Makanan Mengandung *E. coli*.” *Tempo.co*, February 14. Retrieved June 25, 2025 (<https://www.tempo.co/politik/ratusan-mahasiswa-ub-keracunan-dinkes-makanan-mengandung-e-coli-218797>).
- [23] Wardani, G. R. 2021. Analisis MPN (Most Probable Number) Bakteri Coliform pada Air Sumur Penduduk yang Bermukim di Sepanjang Sungai Lamandau, Desa Batu Kotam, Kecamatan Bulik, Kabupaten Lamandau, Kalimantan Tengah. Karya Tulis Ilmiah. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika, Pangkalan Bun.
- [24] World Health Organization. n.d. "*E. coli*.” Retrieved May 6, 2025 (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>).
- [25] Zaenab, Z., N. Nurhaidah, I. Chalizhah, and N. Azizah. 2024. "Faktor Personal Hygiene Penjamah dan Kondisi Sanitasi TPM terhadap Kualitas Bakteriologis Makanan Jajanan di Kuliner Pasar Cidu Kota Makassar.” *Jurnal Sulolipu: Media Komunikasi Sivitas Akademika dan Masyarakat* 24(2):378–391.

- [26] Yaqin, A., Laili, S., & Syauqi, A. (2019). Persepsi Masyarakat terhadap Sanitasi Pasar Tradisional (Pasar Blimbing dan Pasar Mergan) di Kota Malang. *Jurnal Ilmiah Biosainstropis (Bioscience-Tropic)*, 4(Edition Khusus), 21–25.
- [27] Google Maps. (2025). *Peta Lokasi Pasar Tradisional Kota Malang*. Diakses 9 Januari 2025 (<https://www.google.com/maps/place/Pasar+Besar+Malang/@7.9862431,112.6285937,17z>).