

Pengaruh Fermentasi Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap Coliform dan *Escherichia coli* pada Selada (*Lactuca sativa*)

Effect of Fermentation of Siwalan Sap (Borassus flabellifer) on Coliform and Escherichia coli in Lettuce (Lactuca sativa)

Destiari Ayu Widinugroho*, Mahanani Tri Asri

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: destiari.17030244034@mhs.unesa.ac.id

Abstrak. Selada (*Lactuca sativa*) mempunyai berbagai manfaat, kandungan serat, vitamin, serta mineral yang biasa dikonsumsi dalam keadaan mentah. Namun kesadaran masyarakat akan kebersihan makanan masih kurang, sehingga menyebabkan munculnya salah satu penyakit yaitu diare. Penanganan kontaminasi sayuran segar dapat dilakukan menggunakan produk seperti nira siwalan yang difermentasi, sehingga diperlukan penelitian untuk mengetahui adanya pengaruh fermentasi nira siwalan (*Borassus flabellifer*) serta mengetahui konsentrasi yang optimal dalam menghambat pertumbuhan coliform dan *Escherichia coli* pada lalapan selada (*L. sativa*). Metode *Most Probable Number* (MPN) yang digunakan adalah seri 3 tabung dengan uji praduga (*presumptive test*), uji penegasan (*confirmed test*), dan uji pelengkap (*completed test*). Analisis data dilakukan dengan membandingkan hasil indeks MPN terhadap standar SNI 7388: 2009 tentang batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian fermentasi nira siwalan (*B. flabellifer*) dapat mengurangi jumlah coliform dan *Escherichia coli* pada lalapan selada dengan konsentrasi perlakuan yang paling baik adalah konsentrasi 90% dengan hasil indeks MPN pada uji praduga dan uji penegasan sebesar $17,80 \pm 9,36$ dan $6,80 \pm 4,50$. Namun, berdasarkan perbandingan hasil indeks MPN terhadap standar acuan dikatakan tidak memenuhi syarat cemaran mikroba dalam pangan.

Kata kunci: Metode MPN; nira siwalan; selada (*Lactuca sativa*)

Abstract. Lettuce (*Lactuca sativa*) has various benefits, contains fiber, vitamins and minerals that are usually consumed in raw condition. However, public awareness of food hygiene is still lacking, so that causes foodborne disease case such as diarrhea emerge. Handling of contamination of fresh vegetables can be done using product such as siwalan sap, so research is needed to know the effect of giving the Siwalan sap fermentation (*Borassus flabellifer*) and to determine the optimal concentration in inhibiting the growth of coliform and *Escherichia coli* on fresh lettuce (*L. sativa*). The *Most Probable Number* method (MPN) used is 3 tube series with a presumptive test, confirmed test, and completed test. Data analysis was carried out by comparing the MPN index result against the SNI 7388: 2009 standard regarding the maximum limit of microbial contamination in food. So it can be concluded that giving siwalan sap fermentation (*B. flabellifer*) can reduce the amount of coliform and *E. coli* in lettuce with the best treatment concentration is a concentration of 90% with the MPN index results in the presumptive test and the confirmed test is 17.80 ± 9.36 and 6.80 ± 4.50 . However, based on the comparison of the MPN index results against the reference standard, it is said that it does not meet the requirements of microbial contamination in food.

Key word: MPN Method; Siwalan Sap; Lettuce (*Lactuca sativa*)

PENDAHULUAN

Sayuran merupakan makanan yang memiliki banyak kandungan didalamnya seperti serat, vitamin, dan mineral, serta bermanfaat bagi tubuh yang mengkonsumsinya. Sayuran banyak digunakan sebagai makanan pendamping makanan pokok. Konsumsi sayuran di Indonesia banyak dilakukan baik dalam keadaan mentah (lalapan) maupun sudah dimasak. Masyarakat Indonesia terbiasa mengonsumsi sayuran dalam keadaan mentah sebagai campuran maupun makanan samping lainnya (Yuniastuti & Dewi, 2007).

Konsumsi selada oleh masyarakat akhir-akhir ini banyak dilakukan karena selada mudah ditemukan di pasaran serta memiliki nilai komersial yang baik. Demikian halnya dengan kandungan

gizi berupa vitamin dan mineral pada selada yang tinggi dan tidak didapatkan dalam makanan pokok (Nazaruddin, 2003).

Kebersihan sayuran sangat diperlukan dan harus diperhatikan ketika akan mengonsumsi sayuran dalam keadaan mentah atau sebagai lalapan. Kesadaran masyarakat akan kebersihan makanan masih kurang, sehingga dapat menimbulkan terjadinya *foodborne illness* atau penyakit yang didapatkan dari makanan yang terkontaminasi bakteri patogen, salah satunya adalah bakteri penyebab diare. *Foodborne illness* merupakan masalah global yang menyebabkan penyakit bahkan hingga kematian (Hanson, *et al.*, 2012). Indonesia merupakan salah satu negara yang mempunyai masalah kesehatan berupa diare dengan angka sakit (morbiditas) dan kemungkinan kematian (mortalitas) yang tinggi. Menurut *survey* yang dilakukan oleh Sub direktorat Diare, Departemen Kesehatan tahun 2014 mengenai morbiditas yang disebabkan oleh diare masih tinggi. Angka sakit/morbiditas diare yang tinggi ini salah satunya dipengaruhi oleh tingginya makanan yang terkontaminasi oleh bakteri penyebab diare. Kontaminasi makanan dapat bersumber dari berbagai hal seperti penggunaan air dalam pengolahan makanan, bahan makanan yang digunakan, suhu dalam memasak, dan macam tempat pengelolaan makanan (Djaja, 2008).

Percobaan yang dilakukan oleh Xylia *et al.*, (2019) menyatakan bahwa pada makanan siap makan yang diuji mendapatkan hasil yaitu adanya bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus sp.*, begitu juga dengan penelitian yang dilakukan oleh Olianovi dan Parsaribu (2017) yang menunjukkan ditemukannya bakteri *E. coli* pada sayuran lalapan selada yang dijual di pasaran.

Berbagai penanganan kontaminan sayuran segar atau lalapan dilakukan misalnya dengan teknik sanitasi pencucian dengan senyawa kimia untuk mengurangnya. Namun penggunaan bahan kimia sangat dibatasi karena menimbulkan adanya cemaran baru. Alternatif lain untuk menangani cemaran pada sayuran segar seperti selada adalah menggunakan nira siwalan yang telah difermentasi.

Nira siwalan atau biasa disebut *legen* adalah salah satu hasil dari pohon siwalan yang banyak digunakan. Nira siwalan memiliki kandungan gula yang cukup tinggi yaitu sebesar 10-15 g/100 ml (Silaban, 2017). Produk nira siwalan hanya tahan disimpan dalam beberapa jam (\pm 24-36 jam) sejak disadap dari pohon siwalan. Perubahan akan terjadi ketika proses penyimpanan melebihi waktu tersebut dengan timbulnya gelembung dan perubahan rasa menjadi asam serta berubah menjadi minuman keras yang terkandung banyak alkohol didalamnya akibat dari proses fermentasi dari mikroorganisme yang ada.

Penggunaan fermentasi nira siwalan sebagai alternatif untuk menangani cemaran bakteri perlu dilakukan. Oleh sebab itu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fermentasi nira siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap cemaran *coliform* dan *Escherichia coli* pada lalapan selada (*Lactuca sativa*) serta mengetahui konsentrasi fermentasi nira siwalan (*B. flabellifer*) yang optimal dalam menghambat pertumbuhan *coliform* dan *Escherichia coli* pada lalapan selada (*L. sativa*).

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2020 sampai Januari 2021. Proses pengujian dan pengambilan data dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Surabaya. Sampel selada diambil dari Pasar Tradisional Wonokromo, Surabaya.

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, tabung reaksi, tabung terbalik (tabung durham), cawan petri, ose, media *Lactose Broth* (LB) untuk uji praduga, media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB) untuk uji penegasan, media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) untuk uji pelengkap, 1 liter nira siwalan, akuades, larutan alkohol 70%.

Proses pengambilan sampel selada dilakukan dengan acak di pasar tradisional Wonokromo. Pengujian sampel dilakukan dengan pengulangan sebanyak empat kali. Selada yang telah dibeli kemudian dilakukan pengujian di laboratorium dengan kriteria sayur menurut Purba *et al* (2012) harus dalam keadaan segar, utuh, dan tidak cacat, karena sayuran tersebutlah yang biasanya disantap masyarakat. Sedangkan pengambilan nira siwalan yang akan digunakan dilakukan di Kecamatan Panceng, Kabupaten Gresik. Pada saat pengambilan nira dilakukan dengan menempatkan hasil nira pada wadah kaca steril untuk menghindari kontaminan dari luar. Nira siwalan yang sudah diambil dilakukan inkubasi selama tiga hari hingga terkandung alkohol lebih dari 5% (Didinkaem, 2006).

Penelitian ini menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) sesuai dengan metode *Bacteriological Analytical Manual* (BAM) 4th ED/2002 dan *American Public Health Association* (APHA)

Edisi 22/2012 dengan tabung seri 3 karena sampel yang digunakan adalah sampel pangan. Selada yang digunakan sebanyak 10 gram yang dilakukan pencucian menggunakan larutan fermentasi nira siwalan dari masing-masing konsentrasi sesuai perlakuan dan kemudian air cucian selada tersebut digunakan untuk uji praduga (FDA-BAM, 2002).

Perlakuan yang digunakan sebanyak tujuh perlakuan. Konsentrasi fermentasi nira siwalan yang digunakan adalah 10% (30 ml air fermentasi nira siwalan dan 270 ml akuades), 30% (90 ml air fermentasi nira siwalan dan 210 ml akuades), 50% (150 ml air fermentasi nira siwalan dan 150 ml akuades), 70% (210 ml air fermentasi nira siwalan dan 90 ml akuades), 90% (270 ml air fermentasi nira siwalan dan 30 ml akuades), dan kontrol negatif (air kran) (Susilawati & Nisa', 2015).

Pengujian MPN digunakan ragam 3 seri yaitu 3 x 10 ml, 3 x 1 ml, dan 3 x 0,1 ml. Uji praduga (*presumptive test*) merupakan uji pertama yang dilakukan yaitu dengan memasukkan media LB ke dalam tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml. Kemudian dilakukan pencucian selada menggunakan akuades dengan membuka tiap helai selada hingga bersih. Air cucian selada dari tiap perlakuan diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang sudah berisi media LB sebanyak 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml menggunakan *sprit disposable* dengan keadaan steril. Semua tabung yang sudah diberi sampel dari tiap perlakuan dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Jika dalam 24 jam sudah terdapat gelembung pada tabung terbalik (tabung durham) dan terjadi perubahan warna menjadi keruh maka dilanjutkan dengan uji penegasan, namun jika belum terjadi perubahan dilanjutkan hingga 48 jam (Nugroho, 2006).

Uji penegasan atau uji penguat (*confirmed test*) dilakukan pada tabung yang telah terjadi perubahan pada uji praduga. Tabung tersebut diinokulasikan kedalam tabung lain yang sudah berisi media BGLB sebanyak 10 ml menggunakan ose sebanyak satu ose. Kemudian diinkubasi dengan suhu 45°C selama 2 x 24 jam. Jika terbentuk gas atau gelembung dalam tabung dan terdapat perubahan warna maka dilanjutkan dengan uji pelengkap.

Uji pelengkap (*completed test*) dilakukan dengan menginokulasikan sampel yang positif kedalam media EMBA dalam cawan petri menggunakan ose dengan metode *streak plate*. Cawan petri yang sudah diinokulasi dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 37°C selama 2 x 24 jam. Bakteri *E. coli* akan tumbuh pada media EMBA yang dapat diketahui dengan mengamati warna koloni yang tumbuh pada cawan petri. Bakteri *E. coli* ditandai dengan warna koloni hijau kehitaman metalik sedangkan bakteri *coliform* berwarna merah muda (Faridah *et al*, 2013) .

Penghitungan jumlah bakteri didapatkan dari indeks MPN yang diperoleh dari jumlah tabung positif pada uji praduga dan uji penegasan yang disesuaikan dengan tabel MPN yang menggunakan tabung 3 seri menurut formula Thomas (Aqielatunnisa, 2015). Analisis data dilakukan secara deskriptif yaitu melakukan perbandingan hasil indeks MPN dengan standar SNI 7388: 2009 mengenai batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan khususnya pada sayuran segar untuk konsumsi langsung dalam pangan dalam bentuk tabel, narasi, dan pembahasan.

HASIL

Hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap indeks MPN pada sayuran lalapan selada yang diperoleh dari Pasar Wonokromo Surabaya didapatkan angka jumlah bakteri *coliform* dalam sampel yang diuji. Data indeks MPN yang diperoleh dari tabel MPN seri 3 menurut formula Thomas (Aqielatunnisa, 2015) kemudian dibandingkan dengan standar yang digunakan yaitu standar SNI 7388: 2009. Standar yang sudah ditetapkan tersebut dilihat dari kategori pangan berupa sayuran segar untuk konsumsi langsung dengan jenis mikroba *E. coli* dan batas maksimum mikroba adalah <3 APM/g.

Berdasarkan hasil nilai indeks MPN menunjukkan bahwa terdapat perbedaan hasil pada setiap konsentrasi air fermentasi dari nira siwalan yang digunakan akan tetapi dari semua konsentrasi mendapatkan indeks MPN melewati batas maksimum dari standar acuan SNI (Tabel 1.).

Tabel 1. Hasil indeks MPN fermentasi nira siwalan terhadap cemaran *coliform*

Perlakuan	Hasil Indeks MPN ± SD		Standar Cemaran Mikroba SNI 7388: 2009
	Uji Praduga	Uji Penegasan	
Kontrol Negatif	1200,00 ± 0,00	1200,00 ± 0,00	< 3APM/g
10%	1200,00 ± 0,00	1200,00 ± 0,00	< 3APM/g
30%	1200,00 ± 0,00	396,25 ± 83,50	< 3APM/g
50%	250,75 ± 40,50	13,25 ± 8,50	< 3APM/g
70%	29,00 ± 17,80	11,50 ± 5,57	< 3APM/g
90%	17,80 ± 9,36	6,80 ± 4,50	< 3APM/g

Keterangan : Kontrol negatif (air kran), perlakuan 10% (30 ml air fermentasi dan 270 ml akuades), perlakuan 30% (90 ml air fermentasi dan 210 ml akuades), perlakuan 50% (150 ml air fermentasi dan 150 ml akuades), perlakuan 70% (210 ml air fermentasi dan 90 ml akuades), dan perlakuan 90% (270 ml air fermentasi dan 30 ml akuades).

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa pemberian air fermentasi nira siwalan dapat mengurangi jumlah cemaran bakteri *coliform* pada sayuran lalapan selada yang dapat dilihat dari hasil MPN di tiap perlakuan pada uji praduga dan uji penegasan. Hasil indeks MPN pada uji praduga dan uji penegasan dengan konsentrasi 90% merupakan perlakuan dengan hasil indeks terkecil. Analisis yang dilakukan dengan membandingkan hasil indeks MPN dengan standar SNI 7388: 2009 perihal batas cemaran mikroba dalam sayuran segar untuk konsumsi langsung menunjukkan bahwa pada semua perlakuan tidak memenuhi standar SNI karena melebihi 3APM/g. Pada hasil indeks MPN uji praduga menunjukkan perlakuan 90% mendapatkan nilai terendah dari semua perlakuan yaitu sebesar $17,80 \pm 9,36$ dan hasil indeks MPN uji penegasan menunjukkan juga pada perlakuan 90% mendapatkan nilai terendah dari semua perlakuan yaitu sebesar $6,80 \pm 4,50$.

Pengujian MPN dilakukan dengan tiga langkah. Tahap pertama adalah uji praduga (*presumptive test*) yang dilakukan pada media LB karena media tersebut mampu mendeteksi keberadaan bakteri *coliform*. Hasil menandakan positif ketika media LB yang ada menjadi keruh dan pada tabung terbalik (tabung durham) terdapat gelembung gas yang terlihat pada (**Gambar 1.**) berikut.



Gambar 1. Hasil negatif (kiri) dan hasil positif (kanan) pada uji praduga

Uji kedua yang dilakukan untuk pengujian metode MPN adalah uji penegasan (*confirmative test*) yang menggunakan media BGLB karena mampu mendeteksi keberadaan bakteri *coliform* serta mampu menghambat tumbuhnya bakteri gram positif. Hasil positif ketika media BGLB pada tabung reaksi berubah menjadi tidak jernih dan ada gelembung di dalam tabung terbalik (tabung durham) pada tabung reaksi yang tampak seperti pada (**Gambar 2.**) berikut.



Gambar 2. Hasil negatif (kiri) dan hasil positif (kanan) pada uji penegasan

Tahapan pengujian yang terakhir adalah uji pelengkap (*complete test*) yang dilakukan menggunakan media EMBA yang ditumbuhkan pada cawan petri. Pada uji pelengkap ini akan memunculkan warna koloni hijau metalik di media EMBA pada cawan petri. Koloni yang berwarna hijau metalik merupakan ciri khas dari bakteri *E. coli* namun ketika pada media EMBA tumbuh koloni yang berwarna merah muda menandakan adanya bakteri *coliform* pada sampel selada tersebut yang dapat dilihat pada data pada (Tabel 2).

Pada data uji pelengkap koloni yang terlihat pada media EMBA berwarna hijau metalik menandakan bahwa terdapat bakteri *E. coli* dan juga terdapat koloni yang berwarna merah muda yaitu terdapat bakteri *coliform* yang terlihat pada (Gambar 3.)

Tabel 2. Hasil uji pelengkap MPN pada air cucian selada yang telah diberi perlakuan

No.	Sampel	Hasil Uji Pelengkap	Keterangan
1.	Kontrol Negatif	Terdapat koloni berwarna hijau metalik dan warna merah muda pada semua pengulangan	Positif <i>E. coli</i> dan <i>Coliform</i>
2.	Perlakuan 10%	Terdapat koloni berwarna hijau metalik dan warna merah muda pada semua pengulangan	Positif <i>E. coli</i> dan <i>Coliform</i>
3.	Perlakuan 30%	Terdapat koloni berwarna hijau metalik dan warna merah muda pada beberapa pengulangan	Positif <i>E. coli</i> dan <i>Coliform</i>
4.	Perlakuan 50%	Terdapat koloni berwarna hijau metalik dan warna merah muda pada beberapa pengulangan	Positif <i>E. coli</i> dan <i>Coliform</i>
5.	Perlakuan 70%	Terdapat koloni berwarna hijau metalik dan warna merah muda pada beberapa pengulangan	Positif <i>E. coli</i> dan <i>Coliform</i>
6.	Perlakuan 90%	Terdapat koloni berwarna hijau metalik dan warna merah muda pada beberapa pengulangan	Positif <i>E. coli</i> dan <i>Coliform</i>

Keterangan : Kontrol negatif (air kran), perlakuan 10% (30 ml air fermentasi dan 270 ml akuades), perlakuan 30% (90 ml air fermentasi dan 210 ml akuades), perlakuan 50% (150 ml air fermentasi dan 150 ml akuades), perlakuan 70% (210 ml air fermentasi dan 90 ml akuades), dan perlakuan 90% (270 ml air fermentasi dan 30 ml akuades).

**Gambar 3.** Koloni *E. coli* pada media EMBA (kiri) dan koloni *coliform* pada media EMBA (kanan)

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil indeks MPN yang didapatkan diketahui bahwa sayur lalapan selada yang didapatkan dari pasar tradisional Wonokromo Surabaya tidak memenuhi syarat kesehatan untuk dikonsumsi secara langsung karena hasil indeks MPN melebihi batas yaitu <3 APM per gram sampel menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 7388 tahun 2009 mengenai batas maksimum cemaran mikroba dalam pangan dengan kategori pangan adalah sayuran segar untuk konsumsi langsung.

Berdasarkan hasil pemeriksaan uji praduga diperoleh hasil bahwa semakin tinggi konsentrasi fermentasi nira siwalan maka jumlah *coliform* semakin sedikit seperti pada perlakuan 10% mendapatkan hasil $1200,00 \pm 0,00$ sedangkan pada perlakuan 90% mendapatkan hasil $17,80 \pm 9,36$. Hasil dari uji praduga tersebut menunjukkan hasil positif adanya bakteri *coliform* pada lalapan selada yang direndam dengan air fermentasi nira siwalan. Adanya bakteri ini ditandai dengan adanya gelembung udara pada tabung terbalik (tabung durham) uji praduga yang menandakan bahwa terdapat gas yang dihasilkan bakteri karena proses fermentasi laktosa oleh bakteri golongan *coliform*. Tanda lain yaitu adanya kekeruhan pada media yang menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba dan perubahan nutrisi pada media yang merupakan hasil fermentasi laktosa oleh bakteri. Hal ini sesuai dengan penjelasan oleh Hadi *et al* (2014) yaitu hasil positif pada medium LB terjadi ketika adanya fermentasi laktosa oleh bakteri yang menyebabkan terbentuknya gas berupa rongga kosong pada bagian atas tabung terbalik (tabung durham) terbalik dalam medium LB. Bakteri yang ada pada hasil positif, melakukan oksidasi terhadap asam amino ketika kondisi aerob, namun ketika kondisi anaerob bakteri ini melakukan metabolismenya secara fermentatif dan menghasilkan energi dengan memecah gula menjadi asam organik. Bakteri *coliform* menghasilkan asam format, 2,3 butana diol,

asam suksinat, etil alkohol, asam asetat, gas CO₂, dan H₂ yang menghasilkan perubahan warna media dan terbentuknya gas pada tabung terbalik (tabung durham) (Widodo *et al*, 2015) .

Bakteri patogen yang terdeteksi pada uji praduga merupakan bakteri patogen dari air cucian selada yang diuji. Hal itu terjadi karena kondisi lingkungan tumbuh bakteri patogen *coliform* dan *E. coli* berbeda dengan kondisi pada fermentasi nira siwalan. Bakteri *E. coli* dapat tumbuh pada suhu antara 10-45°C dengan suhu optimum 37°C diatas suhu tersebut *E. coli* akan mengalami inaktivasi. Sedangkan pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 7-7,5 dengan pH minimum sebesar 4 dan pH maksimum adalah 9 (Hawa, 2011). Sedangkan pada fermentasi nira siwalan memiliki tingkat keasaman yang rendah, sehingga menyebabkan bakteri lain maupun bakteri patogen tidak dapat tumbuh. Selain itu kadar alkohol pada fermentasi nira siwalan tinggi sehingga menyebabkan bakteri patogen tidak dapat tumbuh dengan kondisi seperti itu. Penelitian yang dilakukan oleh Sholikhah (2010) mengatakan bahwa nira siwalan (*B. flabellifer*) memiliki pH relatif rendah yaitu antara 3 hingga 5 dan merupakan sumber bakteri asam laktat.

Setelah dilakukan uji praduga dilanjutkan dengan uji penegasan yang dilakukan menggunakan media BGLB dengan memindahkan hasil dari uji praduga kedalam media BGLB. Pada uji penegasan ini mendapatkan hasil yaitu semakin tinggi konsentrasi fermentasi nira siwalan maka nilai MPN semakin rendah. Pada perlakuan 10% hasil MPNnya adalah 1200,00 ± 0,00 sedangkan pada perlakuan 90% sebesar 6,80 ± 4,50. Nilai MPN dari uji penegasan mengalami penurunan dari uji praduga, hal itu terjadi karena media BGLB yang digunakan adalah media yang mampu menyeleksi pertumbuhan bakteri *coliform* gram positif. Menurut Wandrivel *et al*, (2012) media BGLB mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif atau dengan kata lain media ini dapat membatasi pertumbuhan bakteri selain *coliform* gram negatif. Keberadaan bakteri *coliform* gram negatif ditandai dengan terbentuknya zat asam dan gas yang terlihat dengan tanda adanya gelembung pada tabung terbalik (tabung durham) serta adanya perubahan warna media yang menjadi keruh.

Tahap ketiga dari pengujian metode MPN adalah uji pelengkap yang dilakukan dengan mengambil hasil dari uji penegasan kedalam media EMBA. Pemindahan hasil ke media EMBA dilakukan dengan metode *streak plate* untuk mengetahui keberadaan bakteri *E. coli*. Menurut Khotimah (2013) media EMBA mengandung laktosa dan sukrosa serta memiliki fungsi untuk membedakan mikroba yang mampu melakukan fermentasi terhadap laktosa dengan bakteri yang tidak mampu memfermentasikan laktosa.

Pada penelitian ini mendapatkan hasil bahwa terdapat koloni berwarna hijau metalik pada media EMBA yang diinokulasi dengan hasil dari uji penegasan. Pada tiap perlakuan terdapat hasil koloni yang berwarna hijau metalik namun juga terdapat beberapa koloni yang tidak berwarna hijau metalik melainkan berwarna merah muda. Warna koloni hijau metalik pada media EMBA menunjukkan hasil positif *E. coli* sedangkan warna koloni merah muda menunjukkan adanya kelompok bakteri *coliform* lain. Jorgensen dan Ferraro (2015) mengatakan bahwa koloni yang tumbuh dengan warna hijau metalik dan berkilap pada permukaan media EMBA adalah koloni *E. coli*. Sementara itu koloni yang berwarna merah muda pada media EMBA adalah bakteri *coliform* non fekal seperti bakteri *Citrobacter* dan *Enterobacter aerogenes*. Hasil tersebut menandakan bahwa terkandung bakteri dari golongan *coliform* yang mampu memfermentasikan laktosa (Madigan *et al*, 2014). Eosin dan methylene pada media EMBA berfungsi sebagai pewarna untuk membentuk kompleks pada pH asam yang disebabkan fermentasi laktosa sehingga berubah warna menjadi hijau metalik dan mampu menghalangi pertumbuhan bakteri gram positif. Selain itu adanya fermentasi laktosa pada media EMBA menyebabkan bakteri gram negatif dapat tumbuh (Saridewi *et al*, 2016).

Berdasarkan hasil pemeriksaan yang telah dilakukan terhadap sayur lalapan selada ditemukan adanya *coliform* dan *E. coli*. Keberadaan bakteri *coliform* dan *E.coli* pada makanan sangat berbahaya bagi yang mengkonsumsinya, penjelasan tersebut didukung dengan pernyataan Irianto (2013) yang menyatakan bahwa bakteri *coliform* yang ada di makanan atau minuman sangatlah berbahaya karena memiliki sifat enteropatogenik dan toksigenik serta berbahaya bagi kesehatan yang mengkonsumsinya. Bakteri *coliform* adalah bakteri gram negatif yang mempunyai dua penggolongan yakni *coliform* fekal diantaranya adalah bakteri *E. coli* dan *coliform* nonfekal. Bakteri *coliform* nonfekal memiliki habitat di tanah dan air sedangkan bakteri *E. coli* banyak dijumpai pada kotoran hewan ataupun manusia (Susanna & Hartono, 2003). Keberadaan bakteri tersebut terjadi saat menggunakan pupuk yang berasal dari kotoran hewan atau manusia pada tanaman serta karena tanaman selada memiliki bentuk tanaman yang tidak terlalu tinggi dari permukaan tanah yang memungkinkan adanya kontaminasi dari tanah. Astawan (2004) mengatakan bahwa kontaminasi bakteri *E.coli* pada sayuran yang pendek seperti sayur selada dapat terjadi ketika tanaman terkena pantulan percikan air

hujan dari tanah. Menurut penelitian oleh Djaafar *et al* (2007) bahwa tanaman yang tercemar dapat terjadi ketika pemupukan yang dilakukan untuk meningkatkan kesuburan tanah menggunakan pupuk organik seperti pupuk kandang atau kotoran ternak, sehingga pada saat mengonsumsi selada segar, harus dalam keadaan bersih (tidak tercemar pupuk kandang) sehingga *E. coli* tidak ikut tertelan. Penurunan jumlah *coliform* terjadi karena adanya bile dan brilliant green pada komposisi media BGLB (Oxoid, 2014), Penyebab utama lain adalah adanya beberapa mikroorganisme yang terdapat pada air fermentasi nira siwalan yang dapat menurunkan pH, merombak medium menjadi asam sehingga keberadaan *coliform* dan *E. coli* berkurang. Pengurangan jumlah bakteri dari indeks MPN terbesar terdapat pada perlakuan dengan konsentrasi 90%. Menurut Reshma, *et al* (2017) pada fermentasi nira siwalan (*B. flabellifer* Linn.) mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*, *Mycobacterium smegmatis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Staphylococcus stimulan*.

Aktivitas antibakteri tersebut terjadi karena pada fermentasi nira siwalan terdapat bakteri-bakteri fermentasi yang mampu mengurangi jumlah bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Susilawati dan Nisa' (2015) mendapatkan hasil bahwa terdapat kandungan mikroflora pada nira siwalan yaitu bakteri *Lactobacillus* sp. Bakteri *Lactobacillus* sp. yang ada pada penelitian tersebut memiliki kemampuan dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen salah satunya adalah bakteri *E. coli* (Susilawati dan Nisa', 2015).

Nira siwalan yang digunakan dalam penelitian ini adalah nira yang sudah dilakukan fermentasi selama tiga hari. Proses fermentasi nira siwalan semakin lama akan menghasilkan peningkatan konsentrasi alkohol dan terjadi penurunan nilai pH. Mikroorganisme lain yang terdapat pada fermentasi nira siwalan adalah *Saccharomyces cerevisiae*. Menurut Farantika (2017) *Saccharomyces cerevisiae* mampu menghasilkan etanol, enzim β -1,3-glucanase, chitinase, peroxidase, etil asetat, senyawa volatile yang bersifat antibiotik, antijamur, dan toksin. *S. cerevisiae* juga melakukan kompetisi dan bersifat antibiosis karena pertumbuhan *S. cerevisiae* lebih cepat dari jamur atau bakteri patogen. Selain itu juga terjadi persaingan dalam pemanfaatan nutrisi antara *S. cerevisiae* dan bakteri *E. coli* (Czerucka *et al*, 2007). Produksi etanol juga dapat menjadikan *S. cerevisiae* sebagai inhibitor dan mampu mematikan bakteri dengan menekan pertumbuhan sel karena membran sel terganggu (Chiou *et al*, 2004). Riset yang dilakukan oleh Mesmin *et al* (2011) juga mengatakan bahwa *S. cerevisiae* memiliki efek antagonis terhadap patogen *E. coli* dikarenakan kondisi lingkungan seperti tingkat keasaman, bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang sensitif terhadap pH rendah.

Keberadaan *coliform* dan bakteri *E. coli* sangat membahayakan pada makanan terutama dalam hal ini keberadaan bakteri tersebut melebihi batas cemaran SNI yang sudah ditetapkan. Sehingga sayuran selada yang dibeli di pasar memerlukan penanganan sebelum dikonsumsi. Berdasarkan hasil yang didapat diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengoptimalkan penggunaan fermentasi nira siwalan sebagai bahan alternatif untuk menangani cemaran pada sayuran segar.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka diperoleh kesimpulan bahwa pemberian fermentasi nira siwalan (*B. flabellifer*) dapat mengurangi jumlah cemaran *coliform* dan bakteri *E. coli* pada lalapan selada (*Lactuca sativa*), namun tidak memenuhi standar cemaran dari SNI 7388: 2009 sebesar <3APM/g maksimum. Konsentrasi fermentasi nira siwalan (*B. flabellifer*) yang mampu mengurangi jumlah cemaran *coliform* dan *E. coli* paling besar terhadap lalapan selada (*L. sativa*) adalah pada perlakuan 90% dengan melihat nilai indeks MPN pada uji praduga (*presumptive test*) dan uji penegasan (*confirmed test*) adalah $17,80 \pm 9,36$ dan $6,80 \pm 4,50$.

DAFTAR PUSTAKA

- Aqielatunnisa A, 2015. *Analisis Bakteri Coliform (Fekal Dan Non Fekal) Sebagai Indikator Kualitas Perairan Sungai Gajah Wong, Daerah Istimewa Yogyakarta*. Yogyakarta: Skripsi. Program Studi Biologi. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.
- Astawan, 2004. *Kandungan Gizi Aneka Bahan Makanan*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Chiou RY, Phillips RD, Zhao P, Doyle MP, and Beuchat LR, 2004. Ethanol-mediated variations in cellular fatty acid composition and protein profiles of two genotypically different strains of *Escherichia coli* O157:H7. *Appl. Environ. Microbiol*; 70: 2204-2210.
- Czerucka D, Piche T, and Rampal P, 2007. Yeast as Probiotics *Saccharomyces boulardii* Aliment. *Pharmacol. Ther*; 26: 767-778.
- Depkes RI, 2014. *Kumpulan Modul Kursus Hygiene Sanitasi Makanan dan Minuman*. Jakarta: Departemen Kesehatan.

- Didinkaem, 2006. *Pengawetan Produk Pangan*. Dipetik November 26, 2019, dari Halalguide: <http://www.halalguide.info-air>
- Djaafar, Tietiek, dan Rahayu, 2007. *Cemaran Mikroba pada Produk Pertanian, Penyakit yang ditimbulkannya dan Pencegahannya*. Yogyakarta: Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta.
- Djaja IM, 2008. Kontaminasi *Escherichia coli* pada Makanan dari Tiga Jenis Tempat Pengelolaan Makanan (TPM) di Jakarta Selatan 2003. *Makara*; 12(1).
- Farantika I, 2017. *Potensi Saccharomyces cerevisiae sebagai Antagonis terhadap Patogen Tular Benih pada Jagung*. Malang: Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya.
- Faridah DN, Yasni S, Suswantinah A, dan Aryani GW, 2013. Pencirian Mutu Kimiawi dan Mikrobiologis Produk Bandrek Instan dan Sirup Buah Pala (*Myristica fragrans*). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*; 18(1): 43-48.
- FDA-BAM, 2002. *FDA-BAM Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria*. Dipetik November 23, 2020, dari www.fda.gov: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>
- Hadi B, Bahar E, dan Semiarti R, 2014. Uji Bakteriologis Es Batu Rumah Tangga yang digunakan Penjual Minuman di Pasar Lubuk Buaya Kota Padang. *Jurnal Kesehatan*; 2(3).
- Hanson LA, Zahn EA, Wild SR, Döpfer D, Scott J, and Stein C, 2012. Estimating Global Mortality from Potentially Foodborne Diseases: an Analysis using Vital Registration Data. *Population Health Metrics*; 10(5).
- Hawa LC, 2011. Studi Komparasi Inaktivasi *Escherichia coli* dan Perubahan Sifat Fisik pada Pasteurisasi Susu Sapi Segar Menggunakan Metode Pemanasan dan tanpa Pemanasan dengan Kejut Medan Listrik. *Jurnal Teknologi Pertanian*; 12(1): 31-39.
- Irianto K, 2013. *Mikrobiologi Medis: Pencegahan Pangan Lingkungan*. Bandung: Alfabeta: 415-419.
- Jorgensen JH and Ferraro MJ, 2015. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Medical Microbiology*; 49(11): 1749-55.
- Khotimah S, 2013. Kepadatan Bakteri Coliform di Sungai Kapuas Kota Pontianak. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*; 1(1): 339-349. Lampung: FMIPA Universitas Lampung.
- Madigan MT, Martinko JASD, Dunlap P, and Clark DP, 2014. Biology of Microorganism 13th ed. *Pearson*: 140-141.
- Mesmin LE, Livrelli V, Privat M, Denis S, Cardot JM, Alric M., and Diot SB, 2011. Effect of a New Probiotic *Saccharomyces cerevisiae* Strain on Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in a Dinamic Gastrointestinal Model. *Applied and Environmental Microbiology*; 77(3): 1127-1131.
- Nazaruddin, 2003. *Budidaya dan Pengantar Panen Sayuran Dataran Rendah*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Nugroho A, 2006. *Bioindikator Kualitas Air Cetakan 1*. Jakarta: Universitas Trisakti.
- Olianovi N dan Pasaribu DM, 2017. Menghitung *Escherichia coli* Fekal dari Air Cucian Selada di Pasar Wilayah Kecamatan Grogol. *Jurnal Kedokteran Meditek*; 23(61): 23-31.
- Oxoid, 2014. *The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients, and other Laboratory Services, 5th Edition, Hampshire, Oxoid Limited*. diakses pada 29 Mei 2021. Diambil kembali dari www.oxoid.com: http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0031&c=UK&lang=EN
- Purba SF, Chahaya I, dan Marsaulina I, 2012. Pemeriksaan *Escherichia coli* dan Larva Cacing pada Sayuran Lalapan Kemangi (*Ocimum basilicum*), Kol (*Brassica oleracea* L. Var. *Capitata* L.), Selada (*Lactuca sativa* L.), Terong (*Solanum melongena*) yang dijual di Pasar Tradisional, Supermarket, dan Restoran. Medan: Jurnal USU.
- Reshma MV, Jacob J, Syamnath VL, Habeeba VP, Dileep Kumar BS, and Lankalapalli RS, 2017. First report on isolation of 2,3,4-trihydroxy-5-methylacetophenone from palmyra palm (*Borassus flabellifer* Linn.) syrup, its antioxidant and antimicrobial properties. *Food Chemistry*; 228: 491-496.
- Saridewi I, Pambudi A, dan Ningrum YF, 2016. Analisis Bakteri *Escherichia coli* pada Makanan Siap Saji di Kantin Rumah Sakit X dan Kantin Rumah Sakit Y. *BIOMA*; 12(2).
- Sholikhah SM, 2010. *Kajian Kadar Etanol dan Asam Asetat dalam Cairan Nira Siwalan (Borassus flabellifer L.) Menggunakan Metode Kromatografi Gas (GC)*. Malang: Skripsi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Silaban BM, 2017. *Optimasi Fermentasi produksi Etanol dari Nira Siwalan (Borassus flabellifer) Menggunakan Mikroorganisme Saccharomyces cerevisiae dan Pichia stipitis dengan Response Surface Methodology*. Surabaya: Skripsi. Departemen Teknik Kimia. Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Susanna D dan Hartono B, 2003. Pemantauan Kualitas Makanan Ketoprak dan Gado-gado di Lingkungan Kampus UI Depok melalui Pemeriksaan Bakteriologis. *Makara Seri Kesehatan*; 7(1).
- Susilawati Y dan Nisa' DA, 2015. Efektivitas pemberian Minuman Fermentasi Berbahan Dasar Nira Siwalan (*Borassus flabellifer* Linn) dengan Susu Sapi terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Patogen. *Jurnal Sains*; 5(10). ISSN 2087-0725.
- Wandrivel R, Suharti N, dan Lestari Y, 2012. Kualitas Air Minum yang Diproduksi Depot Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Bungus Padang berdasarkan Persyaratan Mikrobiologi. *Jurnal Kesehatan Andalas*; 1(3): 129-133.
- Widodo TS, Sulistiyanto B, dan Utama CS, 2015. Jumlah Bakteri Asam Laktat (BAL) dalam Digesta Usus Halus dan Sekum Ayam Broiler yang diberi Pakan Ceceran Pabrik Pakan yang difermentasi. *Agripet*; 15(2): 98-103.

- Xylia P, Botsaris G, Chrysargyris A, Skandamis P, and Tzortzakis N, 2019. Variation of Microbial Load and Biochemical Activity of Ready-to-eat Salads in Cyprus as Affected by Vegetable Type, Season, and Producer. *Food Microbiology*; 83: 200-210.
- Yuniastuti E dan Dewi WS, 2007. *Program Pengembangan Budaya Kewirausahaan di Perguruan Tinggi*. Dipetik Desember 10, 2019, dari LPPM UNS: <http://lppm.uns.ac.id>

Available Online: 30 November 2021

Published: 31 Januari 2022

Authors:

Destiari Ayu Widinugroho, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: destiari.17030244034@mhs.unesa.ac.id

Mahanani Tri Asri, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung Lt. 2 Surabaya 60231, e-mail: mahananitria@gmail.com

How to cite this article:

Widinugroho DA, Asri MT, 2022. Pengaruh Fermentasi Nira Siwalan (*Borassus flabellifer*) terhadap *Coliform* dan *Escherichia coli* pada Selada (*Lactuca sativa*). *LenteraBio*; 11(1): 174-182