



ANALISIS KOMPARATIF KUALITAS SUSU BERDASARKAN JUMLAH KOLONI, REDUKSI *METILEN BLUE*, DAN KANDUNGAN *COLIFORM*

Dwita Rihsanny, Dwi Shalma Rahmawati, Eni Imroatul Khasanah, Huda Dwi Pangga, Raisya Putri Febriana, Rofiq Aripin, Yonik Meilawati Yustiani*

Program Studi Teknik Lingkungan, Universitas Pasundan, Indonesia

Abstrak: Penelitian ini bertujuan untuk melakukan analisis komparatif terhadap kualitas mikrobiologi susu sapi berdasarkan tiga parameter utama, yaitu waktu reduksi *metilen blue* (MBRT), jumlah total koloni (*Total Plate Count*/TPC), dan indeks jumlah perkiraan terdekat (*Most Probable Number*/MPN) untuk *coliform*. Enam sampel susu dikumpulkan dari berbagai depot susu di Kota Bandung dan diuji di laboratorium mikrobiologi. Hasil uji menunjukkan bahwa sebagian besar sampel memiliki kualitas mikrobiologi yang rendah, dengan MBRT <2 jam, TPC >300 CFU/mL, dan JPT tinggi. Hanya satu sampel yang menunjukkan kualitas sangat baik pada MBRT dan TPC, namun tetap mengandung *coliform* dalam jumlah cukup tinggi. Temuan ini menekankan pentingnya sanitasi yang ketat dalam seluruh rantai produksi dan distribusi susu untuk menjamin mutu dan keamanan produk.

Kata kunci: *coliform*, kualitas sanitasi, MBRT, mikrobiologi, susu sapi, *Total Plate Count*

I. PENDAHULUAN

Susu merupakan salah satu bahan pangan bergizi tinggi yang kaya akan protein, lemak, vitamin, dan mineral yang penting bagi kesehatan manusia. Namun, karena kandungan nutrisinya yang tinggi, susu juga menjadi media yang sangat baik untuk pertumbuhan mikroorganisme, termasuk bakteri patogen dan pembusuk (Syamsi, Astuti, Widodo, & Soediarto, 2018). Makanan dan minuman yang dijual secara bebas, terutama di warung memiliki potensi tercemar yang tinggi (Yustiani, Sigalingging, Fitranandia, & Supendi, 2019). Kontaminasi mikrobiologis dalam susu dapat terjadi selama

proses pemerahan, penyimpanan, distribusi, maupun penanganan pasca-produksi yang tidak higienis (Yadav et al., 2020).

Menurut Frazier dan Westhoff (1988), kerusakan susu akibat aktivitas dan pertumbuhan mikroorganisme biasanya lebih berbahaya dibandingkan kerusakan-kerusakan lainnya. Aktivitas mikroorganisme dalam susu dapat mengakibatkan terbentuknya asam, gas, ketengikan, perombakan protein dan lemak, serta perubahan bau, rasa, dan warna yang tidak disukai

Pentingnya pemeriksaan mikro-biologi pada susu bertujuan untuk mengetahui tingkat keamanan dan kualitas susu sebelum dikonsumsi oleh masyarakat. Salah satu indikator umum yang digunakan untuk menilai kualitas mikrobiologi susu adalah jumlah total

* yonik@unpas.ac.id

Diterima: 27 Mei 2025

Direvisi: 3 Juni 2025

Disetujui: 28 Juni 2025

DOI: 10.23969/infomatek.v27i1.29618

koloni bakteri (*Total Plate Count*), keberadaan bakteri *coliform* (*Most Probable Number/MPN*), serta uji reduksi *metilen blue* untuk menilai aktivitas mikroba secara umum.

Menurut Jay et al. (2005), jumlah koloni bakteri yang tinggi dalam susu menandakan penanganan yang kurang higienis serta memungkinkan adanya kontaminasi dari lingkungan maupun peralatan. Selain itu, keberadaan bakteri *coliform* juga menunjukkan kemung-kinan pencemaran dari feses atau sanitasi yang buruk selama proses produksi (Zhao et al., 2019).

Oleh karena itu, dilakukan pengujian mikrobiologi terhadap sampel susu yang diperoleh dari beberapa lokasi berbeda untuk menilai mutu mikrobiologi dari masing-masing sampel. Hasil dari pengujian ini diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai kualitas sanitasi dan higienitas pada setiap lokasi pengambilan sampel.

II. METODOLOGI

Penelitian ini menggunakan pen-dekatan eksperimental laboratorium untuk menilai kualitas mikrobiologis susu sapi murni berbasis tiga parameter: MBRT, TPC, dan JPT (MPN).

2.1 Bahan dan Alat

Sampel susu sapi dari 6 depot yang tersebar di Kota Bandung, Aquades Steril, Agar Nutrient, *Lactose Broth Tryptone* (LBT), *Lactose Broth Glucose* (LBG), *Metilen blue*, dan ENDO Agar Steril.

Tabung Reaksi, Tabung Durham, Cawan Petri, Bunsen, Pipet Ukur, Bulp, Jarum Ose, dan Inkubator.

2.2 Pengambilan Sampel

Sampel susu diambil dari 6 lokasi berbeda menggunakan botol steril. Pengambilan dilakukan secara acak, dengan

memperhatikan waktu distribusi dan penyimpanan. Sampel disimpan dalam suhu dingin (4 °C) dan segera dibawa ke laboratorium untuk dianalisis dalam waktu 24 jam.

2.3 Uji Reduksi Metilen blue (MBRT)

Penelitian ini bertujuan untuk menilai aktivitas mikroba dalam sampel susu berdasarkan waktu dekolorisasi larutan *metilen blue* (Hidayat & Anggraeni, 2023). Sebanyak 9 mL sampel susu diambil menggunakan pipet steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, sampel tersebut ditetesi dengan 1 mL larutan *metilen blue* dan dihomogenkan secara perlahan hingga tercampur merata. Perubahan warna *metilen blue* diamati pada waktu awal pencampuran, setelah 2 jam, 6 jam, dan 8 jam inkubasi. Pengamatan ini dilakukan untuk menilai kecepatan dekolorisasi, di mana semakin cepat perubahan warna terjadi, semakin tinggi aktivitas mikroba yang terdapat dalam sampel susu.

2.4 Jumlah Koloni Total

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah total bakteri dalam sampel susu sapi. Metode yang digunakan adalah teknik dilusi seri dan penanaman pada media *Plate Count Agar* (PCA). Sebanyak 1 mL sampel susu diambil menggunakan pipet steril, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat masing-masing 1 mL pada tabung reaksi untuk mencapai tingkat pengenceran 10^{-1} dan 10^{-2} . Setelah itu, sebanyak 1 mL dari setiap tingkat pengenceran dipindahkan ke dalam cawan petri steril. Media PCA cair kemudian dituangkan ke dalam cawan petri yang berisi sampel, dan dibiarkan hingga media memadat. Cawan-cawan tersebut selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni bakteri yang tumbuh diamati dan dihitung untuk

menentukan jumlah total bakteri dalam sampel susu.

2.5 Indeks JPT

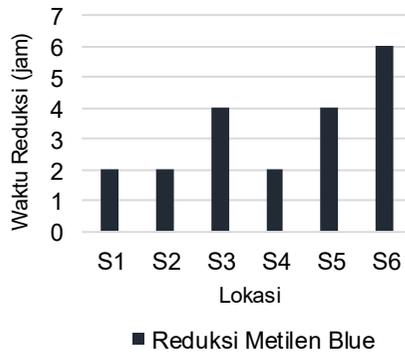
Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jumlah bakteri koliform dalam sampel susu sebagai indikator adanya cemaran feses. Metode yang digunakan adalah uji *Most Probable Number* (MPN) dengan menggunakan tiga seri tabung berisi Laktosa *Broth* (LBG dan LBT) yang dilengkapi dengan indikator tabung Durham, masing-masing dengan tiga tingkat pengenceran, yaitu 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL. Sampel susu diambil menggunakan pipet steril yang berbeda untuk setiap tingkat pengenceran, lalu diinokulasikan ke dalam tabung LBG dan LBT sesuai volumenya. Seluruh tabung kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas dalam tabung Durham dan perubahan warna medium dari ungu menjadi kuning. Tabung-tabung positif kemudian diinokulasikan ke media Endo agar untuk konfirmasi keberadaan bakteri koliform.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Uji Reduksi *Metilen blue* (MBRT)

Uji MBRT digunakan sebagai indikator tidak langsung dari kualitas mikrobiologis susu. Semakin cepat laru-tan *metilen blue* berubah dari biru menjadi putih, semakin tinggi aktivitas mikroorganisme dalam susu. Susu yang mengalami dekolorisasi dalam waktu <2 jam dikategorikan sebagai kualitas bu-ruk, sedangkan yang tetap biru selama >6 jam dikategorikan sebagai kualitas baik.

Gambar 1 memperlihatkan hasil uji MBRT untuk tiap sampel, yaitu S1 = Lokasi V, S2 = Lokasi W, S3 = Lokasi X, S4 = Lokasi U, S5 = Lokasi Y, S6 = Lokasi Z.



Gambar 1. Hasil Uji MBRT

Dalam penelitian ini, sampel Lokasi V, Lokasi W dan Lokasi U mengalami dekolorisasi penuh dalam waktu 1–2 jam, menandakan aktivitas mikroba yang tinggi dan mutu susu yang rendah (kelas IV). Sementara sampel Lokasi Y dan Lokasi X berubah warna antara 2–6 jam, termasuk kategori sedang (kelas III). Hanya sampel Lokasi Z yang mempertahankan warna biru hingga lebih dari 12 jam, menandakan kualitas sangat baik. Hal ini disebabkan adanya perlakuan pasteurisasi ulang susu sebelum disajikan.

Temuan ini diperkuat oleh penelitian Susilawati et al. (2013), yang me-nyatakan bahwa hasil uji MBRT sangat berkorelasi dengan jumlah koloni bakteri. Susu yang dipasteurisasi memer-lukan waktu lebih lama untuk mengubah warna metilen blue, karena mikro-organisme sudah banyak yang diinaktivasi oleh panas.

3.2 Jumlah Koloni Total

Metode perhitungan jumlah koloni digunakan untuk mengetahui total mikroorganisme hidup dalam sampel. Dalam standar mikrobiologi pangan, jumlah koloni yang dapat dihitung berkisar antara 30–300 CFU/ml.

Tabel 1. Hasil Uji TPC

Lokasi	Total Plate Count (CFU/ml)
S1	>300
S2	>300
S3	>300
S4	>300
S5	>300
S6	<30

Hampir keseluruhan sampel dalam penelitian ini menunjukkan jumlah koloni lebih dari 300 CFU/ml, yang berarti populasi mikroba tinggi dan melampaui batas penghitungan yang direkomendasikan, mengindikasikan kualitas mikrobiologis susu yang rendah. Hanya sampel Lokasi Z menunjukkan jumlah koloni

<30 CFU/ml, yang berada di bawah batas deteksi kuantitatif, namun secara praktis dianggap sangat rendah. Ini kembali memperkuat indikasi bahwa pasteurisasi sangat efektif dalam menekan jumlah mikroorganisme dalam susu.

Penelitian oleh Arini (2017) juga menunjukkan bahwa pasteurisasi efektif dalam menurunkan jumlah koloni bakteri pada susu segar.

3.3 Indeks JPT

Indeks JPT merupakan indikator penting keberadaan bakteri *coliform* yang mengindikasikan kontaminasi dari lingkungan atau sanitasi yang buruk dalam proses penanganan susu.

Tabel 2. Hasil Uji Jumlah Perkiraan Terdekat (JPT)

Lokasi	Hasil Uji Profil Tabung	Indeks JPT (MPN/100 mL)	Catatan
S1	3-3-3	2400	Positif gas dan asam seluruh tabung; uji penegasan positif
S2	2-1-2	27	Positif gas dan asam; uji penegasan positif
S3	3-1-1	75	Hasil parsial positif gas dan asam; uji penegasan positif
S4	0-0-1	3	Gas dan asam hanya pada pengenceran tinggi; uji penegasan hanya satu koloni
S5	-	-	Positif asam, tanpa gas; uji penegasan tidak tersedia
S6	3-3-1	460	

Sampel dari Lokasi V: Susu Mandiri menunjukkan hasil kon-taminasi sangat tinggi dengan nilai 2400/100 mL. Hal ini menandakan kegagalan signifikan dalam

praktik sanitasi, baik saat pemerahan, penyimpanan, maupun transportasi. Nilai ini jauh melebihi batas maksimum yang direkomendasikan oleh Standar Nasional

Indonesia (SNI) 3141.1:2011, yaitu <10 koliform/100 mL untuk susu segar konsumsi

Sampel dari Lokasi W dengan nilai JPT 27/100 mL menunjukkan kontaminasi yang masih cukup tinggi, walaupun lebih rendah dari Lokasi V. Koloni ungu metalik pada media endo agar menegaskan keberadaan *coliform*. Hal ini menunjukkan bahwa sanitasi lingkungan dan peralatan mungkin belum optimal.

Sampel dari Lokasi X menunjukkan hasil sedang (75/100 mL). Meskipun terdapat gas dan koloni *coliform*, hanya sebagian tabung yang menunjukkan hasil positif, menandakan kontaminasi mod-erat dan perlunya pembenahan sebagian dalam sistem sanitasi.

Sampel dari Lokasi U dengan indeks JPT 3/100 mL berada dalam kategori sangat baik, mendekati ambang batas aman yang direkomendasikan. Uji penegasan positif hanya untuk pengenceran tinggi menunjukkan bahwa kontaminasi sangat rendah, dan penanganan pasca-pemerahan cukup higienis.

Sampel dari Lokasi Y tidak menunjukkan produksi gas meskipun memiliki perubahan warna media. Ketidakhadiran gas menimbulkan ambiguitas interpretatif karena beberapa bakteri jenis *Enterobacteriaceae non-coliform* juga dapat menghasilkan asam

tanpa gas. Tidak adanya data uji penegasan menjadikan hasil ini tidak konklusif.

Sementara itu, meskipun jumlah koloni total pada sampel Lokasi Z sangat rendah, nilai JPT-nya tetap terdeteksi sebesar 460/100 mL. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun proses pasteurisasi mengurangi mikroorganisme secara umum, masih terdapat kemungkinan kontaminasi ulang setelah proses pasteurisasi atau adanya sisa *coliform* yang tidak sepenuhnya dieliminasi.

3.4 Analisis Komparatif

Berdasarkan hasil pengujian, terlihat bahwa kualitas mikrobiologis pada susu yang diperoleh dari berbagai lokasi menunjukkan variasi yang cukup signifikan, tergantung pada parameter yang diuji: MBRT (*Methylene Blue Reduction Time*), TPC (*Total Plate Count*), dan JPT (Jumlah Perkiraan Terdekat).

Sampel dari Lokasi V (S1) menunjukkan kualitas mikrobiologis yang paling rendah. MBRT-nya berada di bawah 2 jam (Kelas IV), TPC-nya melebihi batas maksimum (lebih dari 300 CFU/mL), dan indeks JPT-nya mencapai 2400 MPN/100 mL yang menandakan tingkat kontaminasi *coliform* yang sangat tinggi. Ini menandakan bahwa baik sanitasi pemerahan, penanganan pasca-panen, maupun kebersihan alat atau wadah yang digunakan sangat buruk dan memungkinkan pencemaran dari lingkungan sekitar.

Tabel 3. Analisis Komparatif Kualitas Susu

Lokasi Sampel	MBRT (Jam)	Kategori MBRT	TPC (CFU/mL)	Kategori TPC	JPT (MPN/100 mL)	Kategori JPT
S1	<2	Kelas IV	>300	Buruk	2400	Sangat tercemar
S2	<2	Kelas IV	>300	Buruk	27	Cukup tercemar
S3	2–6	Kelas III	>300	Buruk	75	Tercemar sedang

Lokasi Sampel	MBRT (Jam)	Kategori MBRT	TPC (CFU/mL)	Kategori TPC	JPT (MPN/100 mL)	Kategori JPT
S4	<2	Kelas IV	>300	Buruk	3	Rendah/tidak tercemar
S5	2–6	Kelas III	>300	Buruk	Tidak tersedia	Tidak tersedia
S6	>12	Kelas I (baik)	<30	Sangat baik	460	Tercemar tinggi

Sampel dari Lokasi W (S2) dan Lokasi X (S3) menunjukkan kualitas yang lebih baik dibanding Lokasi V, meskipun tetap berada dalam kategori yang kurang baik secara keseluruhan. Lokasi W memiliki MBRT <2 jam (Kelas IV), TPC >300 CFU/mL, dan JPT 27 MPN/100 mL, yang masih menunjukkan adanya kontaminasi *coliform* tetapi pada tingkat yang lebih rendah dari Lokasi V. Lokasi X sedikit lebih baik dari segi MBRT (2–6 jam, Kelas III) namun masih memiliki TPC tinggi dan JPT 75 MPN/100 mL, menandakan potensi risiko konsumsi jika tidak melalui proses pasteurisasi lanjutan.

Menariknya, sampel dari Susu Lokasi U (S4) memiliki JPT paling rendah yaitu hanya 3 MPN/100 mL, meskipun TPC-nya masih tinggi dan MBRT-nya tetap dalam kategori Kelas IV. Hal ini mengindikasikan bahwa meskipun jumlah bakteri totalnya tinggi, proporsi bakteri *coliform* sebagai indikator sanitasi relatif kecil, yang dapat terjadi jika pencemaran lingkungan berhasil dikendalikan namun faktor lain seperti pendinginan atau waktu distribusi belum optimal.

Sampel dari Lokasi Y (S5) tidak dilengkapi dengan data JPT, namun MBRT dan TPC-nya menempatkan sampel ini dalam kategori sedang-buruk. Kurangnya data JPT

menyebabkan kesulitan dalam mengkaji aspek sanitasi spesifik berbasis *coliform*.

Satu-satunya sampel yang menunjukkan kualitas baik secara MBRT dan TPC adalah dari Lokasi Z (S6), dengan waktu reduksi metilen lebih dari 12 jam (Kelas I) dan TPC <30 CFU/mL. Namun, nilai JPT-nya mencapai 460 MPN/100 mL, yang masih tinggi. Kemungkinan bahwa kontaminasi *coliform* bisa berasal dari tahap akhir, seperti proses pasteurisasi yang tidak efektif atau kontaminasi sekunder pasca pengolahan, seperti saat pengemasan atau distribusi.

Secara umum, hasil ini menunjukkan bahwa tidak semua parameter selalu sejalan, dan penggunaan ketiga parameter secara terpadu memberikan gambaran yang lebih menyeluruh tentang kualitas dan keamanan susu. MBRT mengukur ketahanan mikroba dalam susu, TPC menggambarkan populasi mikroba total, dan JPT secara spesifik menyoroti indikator kebersihan dan sanitasi, yaitu *coliform*. Maka, dalam evaluasi mutu susu, ketiganya perlu digunakan secara simultan agar tidak terjadi bias dalam penilaian mutu hanya karena salah satu indikator terlihat baik.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian terhadap sampel susu dari enam lokasi berbeda, dapat disimpulkan bahwa kualitas mikrobiologis susu

sangat bervariasi tergantung pada kondisi sanitasi, penangan-anan, dan proses distribusi di masing-masing lokasi. Uji MBRT menunjukkan bahwa sebagian besar sampel memiliki aktivitas mikroba tinggi, ditandai dengan waktu dekolorisasi *metilen blue* yang cepat, yang menandakan kualitas susu yang rendah. Hasil uji *Total Plate Count* (TPC) juga menguatkan temuan tersebut, di mana lima dari enam sampel menunjukkan jumlah koloni bakteri melebihi 300 CFU/mL, jauh di atas batas yang direkomendasikan untuk susu segar konsumsi. Hanya satu sampel, yaitu dari lokasi Lokasi Z, yang menunjukkan hasil MBRT dan TPC terbaik, diduga karena adanya proses pasteurisasi ulang sebelum penyajian.

Sementara itu, uji Jumlah Perkiraan Terdekat (JPT) mengungkap bahwa kontaminasi *coliform* masih menjadi permasalahan utama, terutama pada sampel dari Lokasi V dan Lokasi Z yang menunjukkan angka JPT sangat tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun proses pasteurisasi dapat menekan jumlah total mikroorganisme, risiko kontaminasi ulang tetap ada jika penanganan pasca-pasteurisasi tidak higienis. Sebaliknya, sampel dari Susu Lokasi U menunjukkan kontaminasi *coliform* yang sangat rendah, menandakan pengendalian sanitasi yang lebih baik meskipun jumlah total bakteri masih tinggi. Oleh karena itu, peningkatan kualitas susu tidak hanya bergantung pada proses pengolahan, tetapi juga pada penerapan hygiene dan sanitasi yang ketat selama seluruh rantai produksi hingga distribusi.

DAFTAR PUSTAKA

- Arini, N. D. (2017). Pengaruh Pasteurisasi terhadap Jumlah Koloni Bakteri dalam Susu Sapi Segar. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 9(1), 45–52.
- Frazier, W. C., & Westhoff, D. C. (1988). *Food Microbiology (4th ed.)*. McGraw-Hill.
- Hidayat, K. & Anggraeni, D.N. (2023). Analisis Pengendalian Mutu Bahan Baku Susu Segar pada Koperasi Peternakan Sapi Perah XYZ. *Prosiding Seminar Nasional Pembangunan dan Pendidikan Vokasi Pertanian*, 375-387. DOI: <https://doi.org/10.47687/snppvp.v4i1.660>
- Jay, J. M., Loessner, M. J., & Golden, D. A. (2005). *Modern Food Microbiology (7th ed.)*. Springer Science+Business Media.
- Lembaga Standardisasi Nasional (BSN). (2011). SNI 3141.1:2011 Susu Segar – Bagian 1: Syarat Mutu. Badan Standardisasi Nasional.
- Susilawati, D., Widaningrum, W., & Setiawan, A. (2013). Hubungan Antara Waktu Reduksi *Metilen blue* dengan Jumlah Koloni Bakteri dalam Susu Segar. *Jurnal Peternakan Nusantara*, 2(2), 20–26.
- Syamsi, A. N, Astuti, T.Y., Widodo, H.S. & Soediarto, P. (2018). Kajian keamanan pangan dan tingkat prevalensi cemaran bakteri susu di Sentra Pengembangan Sapi Perah Cilongok. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 28(3), 224-232.
- Yadav, S., Singh, R. K., & Singh, M. (2020). Microbial Quality of Raw Milk and

Associated Risk Factors. *International Journal of Dairy Science*, 15(2), 85–92.

Yustiani, Y., Sigalingging, D. A., Fitranandia, H., & Supendi, N. I. (2019). Kajian Mengenai Kontaminasi Mikroorganisme Pada Makanan yang Dijual di Pinggir Jalan. *Infomatek*, 21(1), 55–60.

Zhao, X., Lin, C. W., Wang, J., & Oh, D. H. (2019). Advances in Rapid Detection Methods for Foodborne Pathogens. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(3), 329–336.