

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. Tinjauan Umum Kedelai**

##### **2.1.1. Sejarah Kedelai**

Kedelai merupakan tanaman asli Daratan Cina dan telah dibudidayakan sejak 2500 SM. Berkembangnya perdagangan antarnegara, menyebabkan tanaman kedelai tersebar ke berbagai negara tujuan perdagangan, yaitu Jepang, Korea, Indonesia, India, Australia, dan Amerika. Kedelai mulai dikenal di Indonesia sejak abad ke-16. Awal mula penyebaran dan pembudidayaan kedelai yaitu di Pulau Jawa, kemudian berkembang ke Bali, Nusa Tenggara, dan pulau-pulau lainnya (Irwan, 2006).

##### **2.1.2. Klasifikasi tanaman kedelai**

Klasifikasi tanaman kedelai menurut Cahyono, 2007 sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Polypetales
Famili	: Leguminosea
Sub famili	: Papilionoideae
Genus	: <i>Glycine</i>
Spesies	: <i>Glycine max</i> L. Merrill

##### **2.1.3. Tanaman Kedelai**

Bagian utama dari tanaman kedelai adalah akar, batang, cabang, daun, bunga, polong, dan biji. Di dalam polong terdapat biji yang berjumlah 2-3 biji. Setiap biji kedelai mempunyai ukuran bervariasi, mulai dari kecil (sekitar 7-9 g/100 biji), sedang (10-13 g/100 biji), dan besar (>13 g/100 biji). Bentuk biji

bervariasi, tergantung pada varietas tanaman, yaitu bulat, agak gepeng, dan bulat telur. Namun, sebagian besar biji berbentuk bulat telur. Warna kulit biji bervariasi, mulai dari kuning, hijau, coklat, hitam, atau kombinasi campuran dari warna-warna tersebut (Irwan, 2006). Pada gambar biji kedelai ditunjukkan pada Gambar 2.1, sedangkan pada kandungan gizi biji kedelai ditunjukkan pada Tabel 2.1 sebagai berikut:



**Gambar 2.1** Biji kedelai (Irwan, 2006)

**Tabel 2.1. Kandungan Gizi Biji Kedelai**

No	Unsur Gizi	Kadar/100 gr Kedelai
1.	Energi	442 kal
2.	Air	7,5 gr
3.	Protein	34,9 gr
4.	Lemak	18,1 gr
5.	Karbohidrat	34,8 gr
6.	Mineral	4,7 gr
7.	Kalsium	227 mg
8.	Fosfor	585 mg
9.	Zat Besi	8 mg
10.	Vitamin A	33 mcg
11.	Vitamin B	1,07 mg

(Sumber: Anonim, 2007)

#### 2.1.4. Morfologi Tanaman Kedelai

##### 1. Akar

Akar kedelai mulai muncul dari belahan kulit biji yang muncul disekitar mesofil. Calon akar tersebut kemudian tumbuh dengan cepat kedalam tanah,

sedangkan kotiledon yang terdiri dari dua keping akan terangkat ke permukaan tanah akibat pertumbuhan yang cepat dari hipokotil. Sistem perakaran kedelai terdiri dari dua macam, yaitu akar tunggang dan akar sekunder (serabut) yang tumbuh dari akar tunggang. Selain itu kedelai juga seringkali membentuk akar adventif yang tumbuh dari bagian bawah hipokotil. Pada umumnya, akar adventif terjadi karena cekaman tertentu, misalnya kadar air tanah yang terlalu tinggi. Perkembangan akar kedelai sangat dipengaruhi oleh kondisi fisik dan kimia tanah, jenis tanah, cara pengolahan lahan, kecukupan unsur hara, serta ketersediaan air di dalam tanah (Cahyono, 2007).

Salah satu kekhasan dari sistem perakaran tanaman kedelai adalah adanya interaksi simbiosis antara bakteri nodul akar (*Rhizobium japonicum*) dengan akar tanaman kedelai yang menyebabkan terbentuknya bintil akar. Bintil akar sangat berperan dalam proses fiksasi nitrogen yang sangat dibutuhkan tanaman kedelai untuk kelanjutan pertumbuhannya (Sarwanto, 2008).

## **2. Batang**

Batang Tanaman kedelai dikenal dua tipe pertumbuhan batang, yaitu determinit dan indeterminit. Batang tanaman kedelai tidak berkayu, berbatang jenis perdu (semak), berambut atau berbulu dengan struktur bulu yang beragam, berbentuk bulat, berwarna hijau, dan panjangnya bervariasi antara 30-100 cm. Jumlah buku pada batang akan bertambah sesuai penambahan umur tanaman, tetapi pada kondisi normal jumlah buku berkisar antara 15-20 buku dengan jarak antar buku berkisar antara 2-9 cm. Batang pada tanaman kedelai ada bercabang dan ada yang tidak bercabang tergantung dari varietas dan kepadatan populasi tanaman. Jika kepadatan tanaman rapat, maka cabang yang tumbuh berkurang atau

bahkan tidak tumbuh cabang sama sekali. Pada umumnya cabang pada tanaman kedelai antara 1-5 cabang (Adisarwanto, 2002).

### **3. Daun**

Jarak daun kedelai selang-seling, memiliki tiga buah daun atau daun menjari tiga (*trifoliate*). Ujung daun biasanya tajam atau tumpul, lembaran daun samping sering agak miring, dan sebagian besar kultivar menjatuhkan daunnya ketika buah polong mulai matang (Septiatin, 2008).

Pada buku pertama tanaman yang tumbuh dari biji terbentuk sepasang daun tunggal. Selanjutnya, pada semua buku di atasnya terbentuk daun majemuk selalu dengan tiga helai. Helai daun tunggal memiliki tangkai pendek dan daun bertiga mempunyai tangkai agak panjang. Masing-masing daun berbentuk oval, tipis, dan berwarna hijau. Permukaan daun berbulu halus pada kedua sisi. Tunas atau bunga akan muncul pada ketiak tangkai daun majemuk. Setelah tua, daun menguning dan gugur, mulai dari daun yang menempel di bagian bawah batang (Andrianto, 2004).

Umumnya, bentuk daun kedelai ada dua, yaitu bulat (oval) dan lancip (*lanceolate*). Kedua bentuk daun tersebut dipengaruhi oleh faktor genetik. Bentuk daun diperkirakan mempunyai korelasi yang sangat erat dengan potensi biji. Umumnya, daerah yang mempunyai tingkat kesuburan tanah tinggi sangat cocok untuk varietas kedelai yang mempunyai bentuk daun lebar. Daun mempunyai stomata antara 190-320 buah/m<sup>2</sup> (Irwan, 2006). Pada gambar daun kedelai ditunjukkan pada Gambar 2.2 sebagai berikut:



**Gambar 2.2** Daun kedelai (Irwan, 2006)

## **2.2. Tinjauan Susu Kedelai**

### **2.2.1. Definisi**

Susu kedelai adalah cairan hasil ekstraksi protein biji kedelai dengan menggunakan air panas. Sejak abad II sebelum masehi, susu kedelai sudah dibuat di negeri Cina kemudian terus berkembang ke Negara Jepang, dan setelah Perang Dunia II susu kedelai mulai masuk ke Asia Tenggara (Muctadi, 2004).

Susu kedelai merupakan salah satu produk olahan kedelai yang diperoleh dengan cara menggiling kedelai yang dicampur air kemudian disaring dan dipanaskan. Susu kedelai adalah hasil ekstraksi dari kedelai. Protein susu kedelai memiliki susunan asam amino yang hampir sama dengan susu sapi sehingga susu kedelai dapat digunakan sebagai pengganti susu sapi bagi orang yang alergi terhadap protein hewani (Astawan, 2004).

Susu kedelai merupakan salah satu minuman suplemen (tambahan) yang dianjurkan diminum secara berkala atau teratur sesuai kebutuhan tubuh. Sebagai minuman tambahan, artinya susu kedelai bukan merupakan obat, tetapi bisa menjaga kondisi tubuh agar tetap fit sehingga tidak mudah terserang penyakit. Baik dalam bentuk makanan maupun minuman kedelai sangat berkhasiat bagi pertumbuhan tubuh. Kedelai mengandung unsur-unsur dan zat-zat makanan yang penting bagi tubuh (Amrin, 2003).

Lama penyimpanan berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri pada susu kedelai. Daya tahan susu kedelai cair yaitu 1 hari pada suhu ruang, tetapi apabila pada proses pembuatan tidak bersih atau steril maka akan mengakibatkan daya tahan susu tidak sampai 1 hari dikarenakan adanya kontaminasi dengan mikrobia (Priyanti, 2008).

### **2.2.2. Sejarah dan Penyebaran Susu kedelai**

Sejak abad II sebelum Masehi, susu kedelai sudah dibuat di negeri Cina. Dari sana kemudian berkembang ke Jepang dan setelah PD II masuk ke Asia Tenggara. Di Indonesia, perkembangannya sampai saat ini masih ketinggalan dengan Singapura, Malaysia, dan Filipina. Di Malaysia dan Filipina susu kedelai dengan nama dagang “Vitabean” yang telah diperkaya dengan vitamin dan mineral, telah dikembangkan sejak 1952. Di Filipina juga dikenal susu kedelai yang populer dengan nama “Philsoy”. Sementara di tanah air baru beberapa tahun terakhir dikenal susu kedelai dalam kemasan kotak karton yang diproduksi oleh beberapa industri minuman. Jika susu sapi bisa dijadikan susu asam atau yoghurt, susu kedelai juga bisa dioalah menjadi susu asam atau soyghurt, dan juga keju kedelai.

### **2.2.3. Kandungan Susu Kedelai**

Susu kedelai memiliki kadar protein dan komposisi asam amino yang hampir sama dengan susu sapi. Selain itu, susu kedelai mengandung mineral dan vitamin dalam jumlah yang cukup. Kedelai merupakan sumber minyak yang tinggi. Kadar lemak kedelai sekitar 18% dan mengandung asam lemak tidak jenuh esensial yang sangat dibutuhkan tubuh untuk hidup sehat (Astawan, 2004).

Vitamin yang dominan pada kacang kedelai adalah vitamin A,D,E,K dan vitamin B1. Mineral yang banyak dijumpai pada kedelai adalah kalsium, fosfor, besi, natrium, dan kalium (Astawan, 2004). Sebagai bahan untuk membuat minuman tambahan yang dianjurkan, setiap 100 gram kedelai mengandung berbagai zat makanan penting seperti yang diuraikan dalam tabel 2.2 sebagai berikut:

**Tabel 2.2 Kandungan Zat-Zat Makanan Pada Susu Kedelai**

<b>Zat Makanan</b>	<b>Kedelai Putih (%)</b>	<b>Kedelai Hitam (%)</b>
Air	13,75	14,05
Protein	41,00	40,40
Lemak	15,80	19,30
Karbohidrat	14,85	14,10
Mineral	5,25	5,25

Dalam bentuk susu segar (susu kedelai), kandungan zat besi, kalsium, karbohidrat, fosfor, vitamin A, vitamin B kompleks dosis tinggi, air, dan lesitin bisa terserap lebih cepat serta baik dalam tubuh (Amrin, 2003). Keunggulan lain yang dimiliki susu kedelai adalah tidak mengandung laktosa, proteinnya tidak menimbulkan alergi, rendah lemak, bebas kolesterol dan bergizi tinggi (Astawan, 2004).

Kandungan protein kedelai sekitar dua kali kandungan protein daging, yaitu sekitar 40% sedangkan kandungan protein daging sekitar 18%. Kandungan protein yang tinggi ini sangat cocok dikonsumsi untuk masa pertumbuhan, terutama untuk sel otak serta pembentukan tulang. Selain lebih banyak, kandungan protein kedelai juga lebih berkualitas dibandingkan dengan yang dikandung kacang-kacangan lainnya (Amrin, 2003).

#### **2.2.4. Manfaat Susu Kedelai**

Susu kedelai sangat baik di konsumsi oleh ibu-ibu yang sedang hamil dan menyusui karena kandungan protein pada ASI akan semakin meningkat. Bagi seseorang yang sehat bisa mengonsumsi susu kedelai satu gelas penuh (200 ml) setiap dua hari sekali. Sementara bagi yang sudah terganggu kesehatannya, susu kedelai dapat dikonsumsi satu hingga dua kali dalam sehari (Amrin, 2003).

Minyak kacang kedelai mengandung sitosterol yakni suatu persenyawaan yang juga telah dilaporkan berkhasiat untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Selain itu, penggunaan minyak kacang kedelai dapat menghindarkan dari penyakit jantung. Sebab utamanya ialah, oleh karena minyak kacang kedelai adalah sumber lechitin. Berbagai penelitian yang dibuat menunjukkan bahwa lechitin dari kacang kedelai dapat menurunkan kadar kolestrol (Kuntaraf, 2009).

Lesithin diketahui memiliki kemampuan menghancurkan timbunan kolestrol (lemak) dalam darah dan jaringan tubuh lainnya sehingga peredaran darah akan berjalan lancar dari seluruh tubuh ke jantung atau sebaliknya. Lesithin juga membantu proses peremajaan yaitu merontokkan jaringan tubuh yang sudah rusak dan menggantinya dengan jaringan baru (Amrin, 2003). Susu kedelai juga memiliki senyawa yang disebut fitoestrogen. Fitoestrogen mampu menghambat osteoporosis sehingga wanita pada usia menopause tidak akan mengalami keluhan pasca menopause (Astawan, 2004).

#### **2.3. Bakteri Indikator**

Bakteri indikator adalah bakteri yang menunjukkan adanya kontaminasi oleh feses atau kotoran manusia dan hewan. *Escherichia coli* (Bakteri *Coliform*),

*Streptococcus faecalis*, dan *Clostridium perfringens* tergolong bakteri indikator karena memiliki ciri – ciri sebagai berikut:

1. Merupakan bakteri komensal dengan jumlah yang besar pada saluran pencernaan manusia dan hewan.
2. Tidak tumbuh pada saluran pencernaan organisme lain, kecuali pada manusia dan hewan berdarah panas.
3. Dapat bertahan hidup lebih lama dibandingkan dengan bakteri patogen lainnya.
4. Dapat dihitung secara kuantitatif untuk menentukan tingkat kontaminasi (Purnawijayanti, 2001).

Dari ketiga bakteri tersebut yang paling sering digunakan sebagai bakteri indikator di negara Indonesia adalah *Escherichia coli* atau golongan *Coliform*, sedangkan *Streptococcus faecalis* sebagai indikator tercemarnya makanan dan minuman di negara Amerika Serikat, dan *Clostridium perfringens* sering menyebabkan enteritis nekrotis yang mematikan pada anak – anak di New Guinea (Jawetz dkk, 2001).

#### **2.4. Bakteri *Coliform***

Bakteri *Coliform* merupakan bakteri yang memiliki habitat normal di usus manusia dan juga hewan berdarah panas. Kelompok bakteri *Coliform* diantaranya *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, dan *Enterobacter*. Beberapa definisi juga menambahkan *Serratia*, *Salmonella* dan *Shigella* sebagai kelompok bakteri *Coliform*. Bakteri *Coliform* terutama *Escherichia Coli* menjadi indikasi dari kontaminasi fekal pada air minum dan makanan. Kehadiran bakteri *Coliform*

dinilai untuk menentukan keamanan mikrobiologi dari pasokan air dan makanan mentah atau makanan yang diolah. (Acton, 2013).

#### **2.4.1. Jenis *Coliform***

Suatu group bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya populasi kotoran dan kondisi sanitasi yang kurang baik terhadap air, makanan, dan susu. Adanya bakteri *Coliform* didalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroorganisme yang bersifat entereropatogenik dan toksigenik yang berbahaya bagi manusia. Bakteri *Coliform* ini di bagi menjadi dua:

##### **a. *Coliform* Fekal**

Bakteri *Coliform* yang termasuk bakteri coliform fekal yaitu *Escheichia coli* dan *Citobacter*. Bakteri tersebut merupakan bakteri yan berasal dari kotoran hewan atau manusia. Jadi, adanya *Escheichia coli* pada air menunjukkan bahwa air tersebut pernah terkontaminasi feses manusia dan kemungkinan mengandung patogen usus. Oleh karena itu, standar air minum mensyaratkan bakteri *Escheichia coli* harus nol dalam 100 ml.

##### **b. *Coliform* Non Fekal**

Bakteri *Coliform* yang termasuk bakteri *Coliform* non fekal yaitu *Enterobacter Aerogenes*, *Klebsiella*, *Edwardsiella*, *Serratia*, dan *Paracolon*. Biasanya bakteri tersebut ditemukan pada hewan atau tanaman yang telah mati. Jenis mikroorganisme ini sering dijumpai pada alat-alat pencernaan hewan ataupun burung, baik yang sudah ditenakkan atau yang masih liar. Tempat diperolehnya jenis organism yang terbanyak yang sehubungan dengan suplay bahan pangan manusia adalah sapi, domba, babi, dan ayam (Novianti, 2012).

## 2.5. *Escherichia Coli*

Bakteri *Escherichia Coli* ini termasuk bakteri gram negatif (-), batang pendek berwarna merah, bakteri ini mempunyai ukuran 2,4 mikro x 0,4 hingga 0,7 mikro, berflagel, tidak berspora, dan termasuk bakteri anaerob fakultatif. *Escherichia Coli* ini membentuk koloni yang bulat, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz dkk, 2001).

Beberapa strain dari *Escherichia Coli* selama proses evolusi ,mendapat kemampuan virulensi yang membantu mereka menginfeksi *host*. Jenis *Escherichia Coli* yang patogen tersebut dapat mengakibatkan gangguan intestinal dan infeksi saluran kemih (Prescott, 2008).

Ada lima kelompok *Escherichia Coli* yang patogen, antara lain:

### a. *Enterotoksigenik Escherichia Coli* (ETEC)

*Enterotoksigenik Escherichia Coli* merupakan penyebab paling umum dari diare pada wisatawan dan diare pada bayi yang berada di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk manusia menimbulkan pelekatan ETEC pada sel epitel usus kecil.

### b. *Enteroinvasif Escherichia Coli* (EIEC)

*Enteroinvasif Escherichia Coli* menyebabkan penyakit yang mirip dengan shigellosis. Penyakit yang sering terjadi pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju negara tersebut.

### c. *Enteropatogenik Escherichia Coli* (EPEC)

*Enteropatogenik Escherichia Coli* penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang, *Enteropatogenik Escherichia Coli*

sebelumnya dikaitkan dengan wabah diare pada anak-anak di negara maju *Enteropatogenik Escherichia Coli* melekat pada sel mukosa usus kecil.

d. ***Enterohemoragik Escherichia Coli*(EHEC)**

*Enterohemoragik Escherichia Coli* menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksiknya pada sel vero, suatu ginjal pada monyet hijau Afrika.

e. ***Enteroadgregatif Escherichia Coli* (EAEC)**

*Enteroadgregatif Escherichia Coli* akibat infeksiya menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang ( Adila *et al.*, 2013).

**B. *Citrobacter sp.***

Salah satu spesies bakteri *Citrobacter sp.* ini adalah *Citrobacter diversus*, *Citrobacter diversus* merupakan bakteri gram negatif (-) yang mampu memfermentasikan laktosa secara keseluruhan dengan lambat untuk menghasilkan asam, bakteri ini juga dapat hidup dalam tanah, air limbah, maupun makanan. Jika menginfeksi manusia dapat menyebabkan penyakit infeksi pada saluran kemih, pneumonia, infeksi luka dalam, gastroenteritis, meningitis, bakterimia, dan menyebabkan endocarditis (Jawetz *et al*, 2005).

**C. *Klebsiella sp.***

Bakteri *Klebsiella sp.* ini termasuk bakteri batang gram negatif (-), tidak bergerak, kapsul besar dan teratur, koloni mukoid dan meragi laktosa, dan mempunyai empat spesies yaitu *Klebsiella pneumonie*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, dan *Klebsiella rhinoscleromatis*. Secara normal *Klebsiella pneumonie* ada dalam saluran pernafasan dan ada dalam feses manusia sehat dengan jumlah 5%, jika melebihi dapat menyebabkan nekrosis hemoragik pada paru – paru.

Spesies dari *Klebsiella pneumoniae* dan *Klebsiella oxytoca* dapat menyebabkan infeksi yang diperoleh dari Rumah Sakit, sedangkan spesies dari *Klebsiella ozaenae* dan *Klebsiella rhinoscleromatis* ini sendiri dapat menyebabkan peradangan pada saluran pernafasan yang berada dibagian atas, dan dapat ditemukan pada bagian mukosa hidung dan selaput lendir yang dapat menyebabkan adanya bau busuk (Jawetz dkk, 2001).

#### **D. *Enterobacter sp.***

Bakteri *Enterobacter sp.* adalah bakteri batang gram negatif (-), dapat membentuk rantai, koloni bulat, cembung, halus dengan tepi yang nyata, berflagel, dan membentuk gas dari glukosa. Bakteri ini hidup disaluran pencernaan dan dapat hidup di alam terbuka seperti air, tanah. *Enterobacter sp.* dapat menyebabkan gastroenteritis dan infeksi pada saluran kemih (Jawetz dkk, 2001).

#### **E. *Serratia sp.***

Bakteri *Serratia sp.* merupakan flora normal pada usus, akan tetapi jika berada diluar usus dan pada kondisi sistem imun yang menurun dapat menyebabkan pneumonia, bakterimia, dan endokarditis. Salah satu spesies *Serratia* adalah *Serratia marcescens* yang berbentuk batang gram negatif (-), berkapsul, berflagel peritrik, fakultatif aerobik, dapat tumbuh dalam suhu 5° – 40° C dengan pH antara 5 – 9, pada media agar dapat menghasilkan pigmen merah. *Serratia marcescens* ini pada orang dewasa dapat menginfeksi di bagian saluran kencing, saluran pernafasan (Pneumonia), infeksi mata, meningitis, dan infeksi pada kulit yang terluka. Sedangkan pada anak – anak *Serratia marcescens* ini dapat menginfeksi saluran pencernaan (Jawetz dkk, 2001).

## **2.6. Metode Perhitungan Bakteri**

Metode dalam perhitungan bakteri ini ada dua macam yaitu:

### **A. Perhitungan Langsung**

Penghitungan bakteri secara langsung yaitu jumlah bakteri dihitung secara keseluruhan, baik yang mati maupun yang hidup. Beberapa metode perhitungan bakteri secara langsung sebagai berikut:

#### **1. Cara pewarnaan dan pengamatan secara mikroskopis**

Membuat preparat dengan cara meratakan spesimen pada obyek glass yang telah diketahui volumenya, kemudian preparat diwarnai, kemudian dihitung bakteri pada bagian – bagian tertentu yang telah diketahui luasnya. Dengan mengetahui diameter pada bidang tersebut (Irianto, 2014).

#### **2. Menggunakan bilik hitung**

Cara ini menggunakan cara hemositometer yang sebelumnya sudah dibuat suspensi sekurang – kurangnya adalah  $10^7$  per ml. Semua sel dihitung baik yang masih hidup maupun yang sudah mati (Irianto, 2014).

#### **3. Menggunakan filter membran**

Cairan disaring dengan membran filter steril yang terbuat dari membran filter berspori, bakteri yang bertahan di filter kemudian dihitung (Irianto, 2014).

#### **4. Menggunakan alat perhitungan elektronik**

Cara kerjanya tergantung pada interupsi dari berkas cahaya elektronik yang melintasi suatu ruang, perbedaan konduktivitas sel dan cairan di catat oleh suatu alat secara elektrik. Dengan alat ini dapat dihitung beribu – ribu jumlah bakteri dalam beberapa detik (Irianto, 2014).

## **B. Perhitungan Tidak Langsung**

Perhitungan bakteri secara tidak langsung adalah menghitung jumlah bakteri yang hidup saja. Beberapa metode perhitungan bakteri secara tidak langsung sebagai berikut:

### **1. Hitung Cawan (*Plate Count*)**

Merupakan cara perhitungan sel dengan mengkulturkan sejumlah bahan pada media kultur dalam cawan petri dalam jumlah sel dinyatakan sebagai CFU ( *Colony Forming Unit*). kultur mikroorganisme pada cawan petri dapat dilakukan dengan metode *serial dilutions* (seri pengenceran), *pour plates* ( metode taburan), dan *spread plates* (metode perataan).

### **2. Metode MPN (*Most Probable Number*)**

Merupakan metode perhitungan sel terutama untuk perhitungan bakteri *Coliform* berdasarkan jumlah perkiraan terdekat yaitu perhitungan dalam range tertentu dan dihitung sebagai nilai duga dekat secara statistik dengan merujuk pada Tabel MPN (*Most Probable Number*)

Uji lengkap MPN *Coliform* secara lengkap terdapat 3 tahap, yaitu sebagai berikut:

#### **a. Uji Penduga (*Presumptive Test*)**

Di dalam medium cair tersebut lebih dulu di letakkan tabung durham dalam posisi terbalik. Jika dalam waktu 48 jam tabung-tabung durham mengandung gas, dinyatakan positif. Sebaliknya jika setelah 48 jam tidak ada gas, dinyatakan negatif (Widiyanti dan Ristiati, 2004).

**b. Uji Penguat (*Confirmed Test*)**

Sampel yang telah diinkubasi dan dinyatakan positif yang ditandai dengan terbentuknya gas. Warna hijau berlian pada media BGLB berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan menumbuhkan bakteri golongan koloni. Jika timbul gas sebelum 48 jam berarti tes ini positif (Widiyanti dan Ristiati, 2004).

**c. Uji Pelengkap (*Completed Test*)**