

Perbandingan Metode Pour Plate, Spread plate dan Drop Plate pada Pemeriksaan Total Plate Count (TPC) Minuman Tebu (*Saccharum officinarum* L.)

Comparison Of Total Plate Count (TPC) Methods In Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L.) Drink in Counting the Number of Bacteria

Neli Febiola Lestari¹, Rima Agnes Widya Astuti¹, Wiwin Aprianie¹, Larantika Hidayati¹

¹ Program Studi D III Analisis Kesehatan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika

Article history

Submitted
17 April 2026

Received
18 May 2026

Accepted
5 June 2026

Kata Kunci :

minuman tebu; *Total plate count*; metode *pour plate*; metode *spread plate*; metode *drop plate*

Keywords:

Total plate count; pour plate method; spread plate method; drop plate method.

Abstrak

Total Plate Count (TPC) merupakan salah satu pemeriksaan yang digunakan untuk melihat jumlah mikroorganisme dalam sampel yang terkontaminasi. Metode TPC yang digunakan berdasarkan penelitian terdahulu yaitu metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* tanpa membandingkan antar metode. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan dari metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* pada uji TPC menggunakan sampel minuman tebu. Penelitian ini menggunakan desain *Comparative Experimental Study* dengan pendekatan *simple random sampling*. Analisis data dalam penelitian ini menggunakan uji komparatif *Kruskal-wallis* dilanjutkan dengan uji *post hoc* yaitu uji *Dunn*. Hasil penelitian menunjukkan pada metode *pour plate* didapatkan nilai TPC yaitu berkisar antara $1,69 \times 10^6$ hingga $2,64 \times 10^6$ CFU/mL, metode *spread plate* menghasilkan nilai TPC yaitu berkisar antara $1,0 \times 10^3$ hingga $1,51 \times 10^5$ CFU/mL dan metode *drop plate* menghasilkan nilai TPC yaitu sekitar 9×10^2 hingga $2,2 \times 10^3$ CFU/mL. Uji *Kruskal-wallis* menunjukkan nilai *p-value* yaitu $< 0,001$, terdapat perbedaan yang signifikan di setiap kelompok. Pada uji *Dunn* didapatkan nilai rata-rata peringkat bahwa metode *pour plate* yang memiliki nilai peringkat tertinggi. Dapat disimpulkan berdasarkan secara visual dan uji statistik, metode *pour plate* lebih baik diantara kedua metode lainnya.

Abstract

Total Plate Count (TPC) is one of the tests used to see the number of microorganisms in contaminated samples. The TPC method used is based on previous studies, namely the pour plate, spread plate, and drop plate methods without comparing between methods. This study aims to compare the pour plate, spread plate, and drop plate methods in the TPC test using sugarcane drink samples. This study uses a Comparative Experimental Study design with a simple random sampling approach. Data analysis in this study used the Kruskal-Wallis comparative test followed by a post hoc test, namely the Dunn test. The results showed that the pour plate method obtained TPC values ranging from 1.69×10^6 to 2.64×10^6 CFU/mL, the spread plate method produced TPC values ranging from 1.0×10^3 to 1.51×10^5 CFU/mL and the drop plate method produced TPC values of around 9×10^2 to 2.2×10^3 CFU/mL. The Kruskal-Wallis test showed a *p-value* of < 0.001 , indicating a significant difference between the groups. The Dunn test showed that the pour plate method had the highest average ranking. Visually and statistically, the pour plate method was superior to the other two methods.



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

Korespondensi: Rima Agnes Widya Astuti, Prodi D III Analisis Kesehatan, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Borneo Cendekia Medika Pangkalan Bun, Jl. Sultan Syahrir, Kotawaringin Barat, Kalimantan Tengah, Indonesia, *mobile* 082252517246, *e-mail*: rimaagnes60@gmail.com

Pendahuluan

Minuman tebu dapat tercemar melalui pengolahan bahan baku, tahap pencucian tebu, penyimpanan tebu yang sudah dikupas, alat bahan yang digunakan tidak bersih, maupun melalui lingkungan yang tidak bersih seperti debu jalanan. Beberapa faktor pencemaran tersebut berdampak pada pertumbuhan mikroorganisme pada minuman tebu. Kualitas minuman tebu yang terkontaminasi mikroorganisme berpotensi menimbulkan risiko kesehatan bagi konsumen (Hendrina, 2024). Minuman yang terkontaminasi mikroorganisme dan sanitasi yang buruk dapat menjadi penyebab penularan penyakit seperti diare, kolera, disentri, hepatitis A, tifus dan polio. Menurut *World Health Organization* (WHO) dan *United Nations Children's Fund* (UNICEF), sekitar dua juta kasus diare di seluruh dunia setiap tahunnya. Kasus diare 78% terjadi di negara berkembang terutama di wilayah Afrika dan Asia Tenggara termasuk Indonesia. Berdasarkan Riset Kesehatan Dasar pada tahun 2020 diare yang menyebabkan 14,5% kematian di Indonesia (WHO, 2023).

Keberadaan mikroorganisme dalam produk pangan yang melampaui ambang batas maksimum cemaran ditetapkan sebagai indikator utama terjadinya kontaminasi pada makanan dan minuman (Suryani & Iestari, 2023). Cara untuk mengetahui adanya cemaran mikroorganisme dalam minuman tebu yaitu dengan melakukan pemeriksaan mikrobiologis. Pemeriksaan mikrobiologis yang dapat digunakan untuk melihat cemaran mikroorganisme pada minuman adalah *Most Probable Number* (MPN) dan *Total Plate Count* (TPC). TPC adalah uji yang bersifat umum dan tidak spesifik, tujuannya adalah menghitung total seluruh mikroorganisme hidup pada sampel (Miki. F., et al., 2017). Sedangkan uji MPN bersifat spesifik dan selektif, tujuannya adalah mendeteksi keberadaan kelompok bakteri tertentu yaitu bakteri *coliform* (Rima, A. W. A., et al. 2024). Berdasarkan Peraturan Kepala BPOM RI No. 13 Tahun 2019 mengenai batas cemaran mikroorganisme dalam minuman olahan yaitu nilai TPC maksimum pada minuman sari buah adalah 1×10^2 CFU/mL (BPOM RI, 2019). TPC memiliki beberapa metode yaitu sebaran (*spread plate*), tuang (*pour plate*) dan *drop plate*, masing-masing metode memiliki kelebihan dan kekurangan (Soesetyaningsih et al., 2020).

Beberapa penelitian uji cemaran mikroorganisme pada minuman olahan menggunakan metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* menunjukkan hasil berbeda. Penelitian Oktafiran et al. (2024) menemukan bahwa 12 sampel teh manis melebihi batas TPC berdasarkan Peraturan BPOM RI No. 13 Tahun 2019, menggunakan metode *pour plate*. Penelitian Sari et al. (2025) pada 5 sampel sari buah dengan metode *spread plate* menunjukkan rata-rata TPC: sampel I ($2,19 \times 10^4$), II ($1,98 \times 10^4$), dan III ($1,10 \times 10^4$) melebihi standar Badan Standar Nasional ($<1 \times 10^4$ koloni/mL), sedangkan 2 sampel lainnya memenuhi standar Badan Standar Nasional. Penelitian Soesetyaningsih et al. (2020) pada sampel daging sapi membandingkan metode *drop plate*, *spread plate* dan *pour plate*, serta membandingkan preparasi sampel yang dipotong kecil dan sampel yang diblender dengan larutan pengenceran berbeda yaitu aquades, garfis 0,85% dan *Buffered Peptone Water*.

Beberapa penelitian terdahulu mengenai *Total Plate Count* (TPC) umumnya masih terbatas pada pendekatan semi-kuantitatif dengan penerapan metode *pour plate*, *spread plate*, maupun *drop plate* secara terpisah. Studi-studi tersebut sejauh ini belum melakukan perbandingan langsung untuk melihat efektivitas antar-metode dan belum melibatkan uji statistik dalam analisis datanya. Perbandingan antara metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* menjadi sangat krusial dalam penelitian mikrobiologi karena pemilihan teknik inokulasi berpengaruh langsung terhadap validitas dan akurasi hasil perhitungan jumlah koloni bakteri (Oktafian et al., 2024). Ketepatan dalam menentukan metode dengan akurasi *recovery* tertinggi diperlukan untuk menjamin bahwa data cemaran yang dihasilkan benar-benar merepresentasikan kualitas keamanan pangan yang akan dikonsumsi oleh masyarakat (Dewi & Wardani, 2023). Hal ini disebabkan oleh perbedaan prosedur pada masing-masing metode yang memberikan tingkat stres fisik berbeda terhadap bakteri, sehingga berakibat pada kemampuan pemulihan (*recovery*) bakteri di dalam media pertumbuhan (Sari & Putranti, 2024).

Pada metode *pour plate* penggunaan media agar yang masih dalam kondisi hangat berisiko menyebabkan stres termal atau kematian pada bakteri yang bersifat *termosensitif* (Hendrina, 2024). Meskipun metode *spread plate* dan *drop plate* memberikan keunggulan berupa aerasi optimal

bagi bakteri, metode tersebut memiliki kelemahan terkait keterbatasan luas area pembacaan yang dapat memengaruhi presisi hasil jika koloni dalam sampel minuman sangat tinggi (Soesetyaningsih *et al.*, 2020). Pengujian komparatif ini menjadi sangat penting dilakukan guna menentukan teknik yang paling efektif dalam mempertahankan viabilitas sel agar standar keamanan pangan sesuai Peraturan BPOM RI Tahun 2019 dapat terpenuhi secara akurat. Maka dari itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan ketiga metode TPC tersebut secara komprehensif. Melalui pendekatan kuantitatif yang didukung dengan uji statistik.

Metode

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli hingga Agustus 2025 di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi D-III Analis Kesehatan, STIKES Borneo Cendekia Medika. Desain penelitian yang digunakan adalah *Comparative Experimental Study* untuk membandingkan tiga metode perhitungan bakteri, yaitu *spread plate*, *pour plate*, dan *drop plate*. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh minuman tebu yang berada di wilayah Pangkalan Bun, Kotawaringin Barat. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan teknik *probability sampling* dengan pendekatan *simple random sampling*, sampel diperoleh dari satu pedagang tebu yang bisa mewakili karakteristik sampel minuman tebu di wilayah tersebut (Akbar *et al.*, 2023). Peralatan utama yang digunakan meliputi *Biosafety Cabinet*, autoklaf, inkubator, *colony counter*, mikropipet, dan timbangan analitik. Prosedur dimulai dengan pembuatan media *Nutrient Agar* (NA) sebanyak 36,96 gram dalam 1.320 mL aquadest (Rizki *et al.*, 2022). Meskipun pengujian TPC pada umumnya menggunakan media *Potato Carrot Agar* (PCA), penelitian ini menggunakan media NA karena memiliki kandungan yang relatif serupa dengan PCA. Harga yang ekonomis, serta lebih mudah diperoleh untuk laboratorium dengan anggaran terbatas. Selain itu NA juga memiliki stabilitas yang baik, sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lama tanpa kehilangan efektivitasnya (Suryani, E., & Lestari, D. 2023).

Membuat pengenceran sampel secara bertingkat menggunakan NaCl 0,9% hingga konsentrasi 10^{-1} sampai 10^{-5} dengan pengulangan 6 kali replikasi teknis pada satu unit sampel yang sama untuk setiap metode penanaman. Setelah didapatkan hasil jumlah koloni, dilanjutkan perhitungan menggunakan rumus *Walt Federer* (Rahmi. A. *et al.*, 2024). Penanaman sampel dilakukan menggunakan tiga metode yaitu *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* dengan masing-masing volume yaitu 1000 μ L, 100 μ L dan 10 μ L yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian menghitung koloni bakteri menggunakan rumus TPC sesuai dengan syarat koloni berjumlah 30-300 menggunakan *colony counter* (Arifin *et al.*, 2024). Perhitungan jumlah koloni sebagai berikut:

$$TPC = \frac{\Sigma C}{(1 \times n_1) + (0,1 \times n_2) \times d}$$

Teknik pengumpulan data berupa jumlah koloni bakteri dalam satuan CFU/mL yang kemudian disajikan dengan uji statistik (Iba *et al.*, 2024). Hasil data dianalisis dengan perangkat lunak SPSS, jumlah sampel yang digunakan < 50. Uji normalitas dilakukan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas data dianalisis dengan metode *Levene's Test*. Analisis data perbandingan menggunakan non-parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis*.

Hasil

Hasil penelitian berupa inokulasi pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} dengan menggunakan metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* pada media Nutrien agar didapatkan pertumbuhan koloni bakteri dengan perbedaan kerapatan koloni. Berdasarkan pengamatan makroskopis pada media Nutrien agar, koloni bakteri dominan yang tumbuh dari sampel minuman tebu secara umum ditunjukkan karakteristik morfologi berupa bentuk bulat dengan tepian rata, elevasi cembung, serta berwarna putih susu hingga krem dengan ukuran diameter yang bervariasi. Hasil jumlah koloni pada metode TPC disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Metode TPC pada Sampel Minuman Tebu Berdasarkan Hasil Jumlah Koloni Bakteri

No.	Metode TPC	Pengulangan		Jumlah Koloni Pengenceran				Nilai TPC
				10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
1.	<i>Pour plate</i>	1	TBUD	TBUD	154	32	16,9 × 10 ⁵ CFU/mL	
		2	TBUD	TBUD	TBUD	146	14,6 × 10 ⁶ CFU/mL	
		3	TBUD	TBUD	263	26	26,2 × 10 ⁵ CFU/mL	
		4	TBUD	TBUD	223	39	23,8 × 10 ⁵ CFU/mL	
		5	TBUD	TBUD	TBUD	264	26,4 × 10 ⁶ CFU/mL	
		6	TBUD	TBUD	TBUD	260	26 × 10 ⁶ CFU/mL	
2.	<i>Spread plate</i>	1	TBUD	288	166	33	43,8 × 10 ⁴ CFU/mL	
		2	TBUD	280	125	18	36,8 × 10 ⁴ CFU/mL	
		3	TBUD	231	94	49	33,6 × 10 ⁴ CFU/mL	
		4	TBUD	257	33	31	28,9 × 10 ⁴ CFU/mL	
		5	TBUD	TBUD	123	44	15,1 × 10 ⁵ CFU/mL	
		6	70	40	16	3	10 × 10 ³ CFU/mL	
3.	<i>Drop plate</i>	1	22	9	0	0	22 × 10 ² CFU/mL	
		2	11	12	3	0	11 × 10 ² CFU/mL	
		3	11	13	4	0	11 × 10 ² CFU/mL	
		4	13	10	5	4	13 × 10 ² CFU/mL	
		5	9	11	3	2	9 × 10 ² CFU/mL	
		6	9	20	8	0	9 × 10 ² CFU/mL	

Berdasarkan Tabel 1, perhitungan jumlah koloni TPC menunjukkan metode *pour plate* didapatkan hasil tertinggi pada pengulangan ke-5 dengan nilai TPC sebesar 26,4 × 10⁶ CFU/mL, serta pada pengulangan ke-6 yaitu 26 × 10⁶ CFU/mL. Metode *spread plate*, hasil tertinggi terlihat pada pengulangan ke-1 dengan nilai TPC sebesar 43,8 × 10⁴ CFU/mL. Metode *drop plate*, hasil tertinggi pada pengulangan ke-1 dengan nilai TPC sebesar 22 × 10² CFU/mL. Nilai pada metode *drop plate* jauh lebih rendah dibanding metode *pour plate* dan metode *spread plate*, yang mana seluruh metode tersebut menunjukkan hasil yang melebihi batas maksimum yang dipersyaratkan oleh BPOM RI 2019. Perbandingan metode TPC dilakukan analisis dengan uji normalitas dan uji homogenitas untuk menguji asumsi data sebagai landasan penelitian statistik yang akan digunakan.

Tabel 2. Perbandingan Metode TPC pada Sampel Minuman Tebu dengan Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Metode TPC	Uji Shapiro-Wilk (p-value)	Uji Levene's Test (p-value)
<i>Pour plate</i>	0,056	
<i>Spread plate</i>	0,021	<0,001
<i>Drop plate</i>	0,021	1

Pada uji normalitas diperoleh nilai signifikansi *p-value* metode *spread plate* dan *drop plate* < 0,05, sedangkan metode *pour plate* memperoleh hasil *p-value* > 0,05. meskipun

terdapat satu data yang normal, uji normalitas tetap dikategorikan tidak normal dikarenakan syarat normalitas harus dipenuhi oleh semua kelompok data (Isnaini, M. et al., 2025). Pada uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi *p-value* < 0,05 yang menunjukkan bahwa data dari metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* tidak homogen, sehingga tidak dapat memenuhi persyaratan uji parametrik. Oleh karena itu dilakukan pengujian alternatif menggunakan uji non-parametrik (*Kruskal-Wallis*).

Tabel 3. Perbandingan Metode TPC pada Sampel Minuman Tebu dengan Uji *Kruskal-Wallis* (n = < 50)

Metode TPC	Uji Perbandingan (p-value)
<i>Pour plate</i>	
<i>Spread plate</i>	<0,001
<i>Drop plate</i>	

Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* dengan *p-value* < 0,05. Terdapat perbedaan yang signifikan pada ketiga metode TPC, perbedaan ini jelas dilihat dari jumlah koloni bakteri pada setiap metode sangat berbeda. Ketika uji perbandingan menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok metode, uji *post hoc* dapat digunakan untuk mengidentifikasi pasangan metode yang paling berbeda secara signifikan. *Post hoc* dilakukan menggunakan uji *Dunn Test*.

Tabel 4. Perbandingan Metode TPC pada Sampel Minuman Tebu dengan Uji *Post hoc*

Kelompok Metode	Uji <i>Dunn Test</i> (<i>p-value</i>)	Nilai rata-rata peringkat
<i>Drop-Spread</i>	0,154	<i>Pour plate</i> = 15,50
<i>Drop-Pour</i>	0,000	<i>Spread plate</i> = 9,50
<i>Spread -Pour</i>	0,154	<i>Drop plate</i> = 3,50

Berdasarkan hasil uji *post hoc test* menunjukkan bahwa nilai signifikan perbandingan antara *drop plate* dengan *spread plate* dan antara *spread plate* dengan *pour plate* menghasilkan nilai *p-value* > 0,05 yang berarti tidak ada perbedaan signifikan pada kedua pasangan metode tersebut. Sedangkan kelompok pasangan *drop plate* dengan *spread plate* menghasilkan nilai *p-value* < 0,05 yang berarti terdapat perbedaan yang signifikan. Hasil nilai rata-rata peringkat yang diperoleh dari setiap metode didapatkan metode *pour plate* memiliki nilai peringkat tertinggi.

Pembahasan

Uji mikroorganisme pada minuman tebu dilakukan untuk memastikan keamanan pangan, salah satu metode yang umum digunakan adalah *Total Plate Count* (TPC). TPC merupakan salah satu pemeriksaan mikrobiologi yang digunakan untuk melihat jumlah mikroba dalam suatu produk atau sampel dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media agar (Terrones .F. et al., 2023). Prinsip dari metode TPC adalah menumbuhkan sel bakteri pada media *Nutrient Agar* (NA) dalam cawan petri selama 24 jam pada suhu 37°C. Sebelum sampel ditumbuhkan pada media NA, sampel minuman tebu dilakukan pengenceran terlebih dahulu menggunakan larutan NaCl 0,9%. Pada setiap sampel dilakukan pengenceran 10⁻¹-10⁻⁵ dengan tujuan untuk mengurangi jumlah populasi mikroorganisme dalam sampel, dimana pada pengenceran 10⁻¹ dapat menyebabkan koloni yang tumbuh menumpuk dan sulit dilakukan perhitungan koloni bakteri karena bakteri tidak tunggal (Yunita et al., 2015). Semakin tinggi tingkat pengenceran, maka jumlah bakteri yang terbentuk akan sedikit. Sel bakteri yang berkembang biak akan membentuk koloni, sehingga koloni yang tumbuh dapat dihitung pada media NA menggunakan *Colony counter* dengan syarat perhitungan TPC jumlah koloni 30-300 (Rahmi A et al., 2024).

Hasil pada Tabel 1, perhitungan jumlah koloni TPC menunjukkan adanya perbedaan, metode *pour plate* didapatkan hasil tertinggi pada pengulangan ke-5 dengan nilai TPC sebesar 26,4 × 10⁶ CFU/mL, serta pada pengulangan ke-6 yaitu 26 × 10⁶ CFU/mL. Metode *spread plate*, hasil tertinggi terlihat pada pengulangan ke-1 dengan nilai TPC sebesar 43,8 × 10⁴ CFU/mL. Metode *drop plate*, hasil tertinggi pada pengulangan ke-1 dengan nilai TPC sebesar 22 × 10² CFU/mL. Nilai pada metode *drop plate* jauh lebih rendah dibanding metode *pour plate* dan metode *spread plate*, seluruh metode tersebut menunjukkan hasil yang melebihi batas maksimum yang dipersyaratkan oleh BPOM RI 2019. Perbedaan hasil ini secara teknis dapat dipengaruhi oleh mekanisme masing-masing metode dalam pertumbuhan koloni bakteri. Pada metode *pour plate*, mikroba tersebar di seluruh bagian media NA yang pertumbuhan koloni bakteri lebih optimal (Aliviyanti, D. et al., 2021). Sementara pada metode *spread plate* dan metode *drop plate*, pertumbuhan terbatas pada permukaan media yang terpapar oksigen secara langsung (Yastanto, A. J., 2020).

Pada metode *pour plate*, sampel bakteri dicampur langsung dengan media agar cair sebelum memadat. Hal ini menyebabkan bakteri tersebar secara merata pada semua bagian media. Perbedaan posisi ini menciptakan variasi lingkungan yang memengaruhi pertumbuhan, terutama terkait prinsip difusi oksigen. Oksigen dari udara luar berdifusi dengan mudah ke permukaan agar, namun kemampuan difusinya menurun drastis seiring bertambahnya kedalaman media. Akibatnya, terjadi perbedaan distribusi koloni yang nyata. Koloni tumbuh lebih besar, berbentuk bulat sempurna dan menyebar karena ketersediaan oksigen yang melimpah. Koloni terperangkap di dalam matriks gel, sehingga ukurannya cenderung lebih kecil dan sering kali berbentuk seperti lensa (*lenticular*) akibat tekanan mekanis dari agar yang memadat serta keterbatasan oksigen (Pratama et al., 2024).

Selain itu suhu panas agar dapat mempengaruhi pertumbuhan koloni bakteri, terutama pada metode *pour plate*. Media agar harus dituangkan pada suhu optimal berkisar antara 45°C hingga 47°C (Suryani & Lestari, 2023). Jika suhu agar terlalu tinggi (> 50°C) saat dituang, panas tersebut dapat mendenaturasi protein membran dan merusak enzim esensial bakteri. Kondisi ini memicu terjadinya bakteri stres (*sublethally injured cells*). Bakteri yang terpapar panas ini tidak

sepenuhnya mati, tetapi kehilangan kemampuan untuk mereplikasi diri dalam waktu cepat. Akibatnya, kemungkinan bakteri stres tidak tumbuh pada media karena mereka gagal membentuk koloni yang kasat mata selama masa inkubasi standar (Wulandari & Hidayat, 2025).

Kemampuan pemulihan (*recovery*) bakteri setelah mengalami syok termal sangat bergantung pada karakteristik respirasi mikroorganisme tersebut. Bakteri aerob obligat yang terperangkap di dasar cawan akan mengalami hambatan pemulihan yang ganda, bakteri aerob memperbaiki kerusakan sel akibat panas sekaligus berjuang melawan kondisi hipoksia (kekurangan oksigen) di dalam agar. Sebaliknya, bakteri anaerob fakultatif menunjukkan performa pemulihan yang jauh lebih baik pada metode *pour plate*. Hal ini karena bakteri mampu mengubah jalur metabolismenya dari respirasi aerobik atau respirasi anaerobik, bakteri anaerob fakultatif tetap dapat tumbuh dan memulihkan selnya yang mengalami stres meskipun terperangkap di lapisan agar terdalam yang minim oksigen (Fitriani et al., 2024).

Selain faktor teknik pengerjaan, perbedaan hasil jumlah koloni bakteri dapat dipengaruhi oleh variasi volume sampel yang digunakan pada masing-masing metode (Novita & Mustakim, 2025). Pada metode *pour plate*, penggunaan volume sampel sebesar 1000 μL menumbuhkan koloni bakteri dengan sensitivitas yang lebih tinggi karena cakupan sampel yang lebih luas. Metode *spread plate* menggunakan volume yang lebih terbatas yaitu 100 μL , sehingga menyebabkan sebaran sampel merata dan sampel terserap sempurna pada permukaan media agar tanpa menyebabkan koloni menyatu (*confluent*) (A'yunin, Z. N. et al., 2025). Sementara itu, metode *drop plate* menggunakan volume terkecil sebesar 10 μL yang kurang efisien dikarenakan dapat menyebabkan koloni bakteri tumbuh bertumpuk di area yang sempit tanpa ada bantuan penyebaran sampel. Sehingga hasil perhitungan koloni bakteri lebih rendah karena koloni menyatu (Sari, N. et al., 2022). Perbedaan volume ini secara langsung memiliki dampak pada faktor pengali dalam perhitungan *Colony Forming Units* (CFU) per mililiter, di mana volume yang lebih kecil menuntut representasi sampel yang lebih akurat untuk menghindari kesalahan perhitungan.

Hasil pada Tabel 2, uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan bahwa data *pour plate* memiliki nilai $p\text{-value} > 0,05$ yang

menunjukkan data berdistribusi normal. Sementara itu, data *spread plate* dan *drop plate* memiliki nilai $p\text{-value} < 0,05$ yang berarti kedua metode tidak berdistribusi normal. Berdasarkan hasil dari ketiga metode yang diuji, metode *spread plate* dan *drop plate* yang tidak memenuhi asumsi normalitas, sedangkan *pour plate* berdistribusi normal. Hal ini menandakan bahwa uji normalitas didapatkan data tidak normal karena semua data kelompok metode tidak memenuhi syarat normalitas.

Hasil uji homogenitas varians menggunakan uji *Levene's Test* terhadap data mengenai jumlah koloni bakteri menunjukkan nilai $p\text{-value} < 0,05$. Sehingga dapat disimpulkan bahwa varian antar kelompok data tidak homogen atau terdapat perbedaan antar kelompok metode. Hal ini dapat dikatakan bahwa homogenitas varian tidak memenuhi persyaratan uji *parametrik*. Oleh karena itu dilakukan pengujian alternatif menggunakan uji *non-parametrik* menggunakan *Kruskal-Wallis*.

Hasil pada Tabel 3, uji perbandingan menggunakan *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai $p\text{-value} < 0,05$, disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada nilai TPC antar metode *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate*. Hal ini menunjukkan bahwa nilai TPC setiap metode tidak sama, dimana ada metode *pour plate* yang memiliki nilai TPC lebih tinggi dan lebih rendah pada metode *drop plate*. Namun, uji *Kruskal-Wallis* hanya memberi informasi adanya perbedaan secara keseluruhan, sehingga perlu dilakukan uji lanjut (*post hoc test*) untuk mengetahui kelompok metode mana yang paling berbeda.

Hasil pada Tabel 4, uji *post hoc* menunjukkan bahwa metode *drop plate* berbeda dari *pour plate*. Hal ini terlihat dari nilai signifikan $p\text{-value} < 0,05$. Sehingga, kedua metode ini memberikan hasil jumlah koloni yang berbeda signifikan. Sementara itu, perbandingan antara *drop plate* dengan *spread plate* dan antara *spread plate* dengan *pour plate* menghasilkan nilai $p\text{-value} > 0,05$ yang berarti tidak ada perbedaan signifikan pada kedua pasangan metode tersebut. Nilai rata-rata peringkat yang diperoleh masing-masing metode adalah *drop plate* sebesar 3,50, *spread plate* 9,50 dan *pour plate* 15,50. Hal ini menunjukkan bahwa metode *pour plate* memberikan penyebaran koloni yang cukup baik dengan hasil koloni yang merata dan diikuti oleh *spread plate*, sementara *drop plate* menghasilkan penyebaran koloni yang paling rendah.

Berdasarkan hasil penelitian perbandingan nilai *Total Plate Count* (TPC) menggunakan tiga metode yaitu *pour plate*, *spread plate* dan *drop plate* pada sampel minuman tebu, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan dalam kemampuan deteksi jumlah koloni bakteri. Metode *pour plate* menghasilkan nilai TPC tertinggi dan paling sensitif dibandingkan metode lainnya. Analisis melalui *post-hoc* didapatkan pada pasangan *drop plate-pour plate* memiliki hasil paling berbeda. Sensitivitas yang tinggi pada metode *pour plate* ini berkaitan erat dengan distribusi koloni secara merata di dalam media NA yang memiliki pemulihan (*recovery*) bakteri aerob maupun anaerob fakultatif melalui gradien difusi oksigen yang terbentuk. Meskipun terdapat risiko bakteri stres yang tidak tumbuh akibat pengaruh panas agar saat penuangan, metode ini tetap efektif dalam mendeteksi kontaminasi pada sampel minuman tebu. Oleh karena itu, metode *pour plate* menjadi pilihan metode yang lebih baik untuk digunakan pada metode TPC.

Saran untuk melakukan penelitian selanjutnya dengan jumlah ulangan lebih banyak, pengujian pada berbagai jenis sampel untuk memperkuat hasil perbandingan metode TPC dan menggunakan volume sampel yang sama pada semua metode.

Daftar Pustaka

- Aliviyanti, D., et al. (2021). Skrining Bakteri Penghasil Enzim Amilase dari Sedimen Tambak Udang Vannamei. *Journal of Fisheries and Marine Research* (JFMR), 5(2), 273-281.
- Arifin, M., Yuliani, Y., & Rohmah, M. (2024). Pengaruh Pemanasan Terhadap Karakteristik Sensoris Dan Mikrobiologi Minuman Sari Mentimun Selama Penyimpanan Di Refrigerator. *Journal Of Tropical Agrifood*, 6(2), 77.
- A'yunin, Z. N., Pestariati, P., Endarini, L. H., & Krihariyani, D. (2025). *Pour plate* dan *spread plate* sebagai metode yang akurat dalam pemeriksaan jumlah bakteri dalam urin pada suhu ruang dan suhu kulkas. *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes*.
- BPOM. (2019). Badan Pengawas Obat Dan Makanan Republik Indonesia.
- Dewi, A. K., & Wardani, A. K. (2023). Analisis Mikrobiologis dan Identifikasi Bakteri Kontaminan pada Minuman Tebu di Pasar Tradisional. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, 34(1), 45-52
- Fidelis Pabundu, D., I Simbala, H. E., & Amalia Hariyanto, Y. (2024). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Pinang Yaki (*Areca vestiaria*) Terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acnes* Penyebab Jerawat.
- Fitriani, A., Kusnadi, K., & Rahayu, T. (2024). Pengaruh Gradien Oksigen pada Metode Cawan Tuang terhadap Efisiensi Pertumbuhan Bakteri Anaerob Fakultatif. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 19(2), 85-92.
- Hendrina, S.P. (2024). Gambaran *Hygiene Sanitasi Dan Kandungan Bakteri Coliform* Pada Minuman Tebu Di Pasar Raya Kota Padang Tahun 2024. Tugas Akhir. Kementerian Kesehatan Poltekkes Padang.
- Hendrina, R. (2024). Analisis Mikrobiologi pada Minuman Olahan Tradisional: Tinjauan terhadap Metode Analisis dan Standar Keamanan Pangan di Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 12(1), 58-67.
- Iba, Z., Wardhana, C.) A., & Si, M. (2024). Operasionalisasi Variabel, Skala Pengukuran & Instrumen Penelitian Kuantitatif. *Eureka Media Aksara*.
- Isnaini, M., Afgani, M. W., Al Haqqi, & Azhari, I. (2025). Teknik analisis data uji normalitas. *J-CEKI: Jurnal Cendekia Ilmiah*, 4(2), 1377-1384.
- Miki, F., Linda, R., Studi Biologi, P., Mipa, F., Tanjungpura, U., & Nawawi, J. H. H. (2017). Cemaran mikroba berdasarkan angka lempeng total dan angka paling mungkin koliform pada minuman air tebu (*Saccharum officinarum*) di Kota Pontianak. *Jurnal Biologi dan Terapan*, 6(2).
- Novita, D., & Mustakim, A. (2025). Isolasi dan Pertumbuhan Mikroba dari Tanah menggunakan Media Berbasis Ekstrak Singkong. *Jl. Sersan Muslim No.RT*, 5(3), 3032-2057.
- Oktafian, D., et al. (2024). Analisis Perbandingan Sensitivitas Metode *Pour Plate* dan *Spread Plate* dalam Penentuan Angka Lempeng Total pada Produk Teh Kemasan. *Jurnal Mikrobiologi Terapan Indonesia*, 7(1), 22-30.
- Pratama, R. A., Siregar, M., & Wahyuni. S. (2024). Analisis Difusi Oksigen dan Pola Distribusi Koloni Mikroba pada Berbagai

- Metode Isolasi Berbasis Agar. *Jurnal Biologi Pemikiran dan Aplikasi*, 12(1), 43-50.
- Sari, et al., (2025). *Total Plate Count*. In *Journal Scientific Of Mandalika (Jsm) E-Issn* (Vol. 6, Issue 4).
- Sari, M. P., & Putranti, R. (2024). Higiene Sanitasi dan Kualitas Bakteriologis (*Total Plate Count*) Es Minuman Tebu yang Dijual di Lingkungan Sekolah. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 19(2), 112-119.
- Sari, N. P., & Utami, P. (2022). Studi Komparasi Teknik Inokulasi Bakteri terhadap Akurasi Jumlah Koloni. *Jurnal Biologi & Pembelajarannya (JBP)*, 9(1), 34-41.
- Soesetyaningsih, E., & Azizah. (2020). Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan (*Calculation accuracy of bacterical in beef meat using total plate count method*). *Berkala Sainstek*, 8(3), 75-79.
- Soesetyaningsih, E, et al., (2020). Ketelitian Metode Sensus (*Total Plate Count*) dan Metode Sampling (*Drop Plate*) dalam Menentukan Jumlah Koloni Bakteri. *Jurnal Penelitian Sains*, 22(2), 55-63.
- Suryani, E., & Lestari, D. (2023). Optimasi Suhu Penuangan Media Nutrient Agar terhadap Viabilitas Bakteri Uji. *Jurnal Laboratorium Sains Klinis*, 8(3), 112-118.
- Rahmi, A, Baharun A, Ap, H., Ba, F., & Mf, Z. (2024). Sreening Cemaran Bakteri Susu Segar Kambing Dengan Metode *Total Plate Count* (TPC) (Vol. 3).
- Rima, A. W. A., Larantika, H., Ni, P. S.P.D., Iqlila, R., Yulisa, C. U. (2024). Pemeriksaan *Most Pobable Number* (MPN) pada Air Minum isi Ulang Gratis di Kotawaringin Barat. *Jurnal Borneo Cendekia*, 8(1), 91-101.
- Rizki, Z., Fitriana, F., & Jumadewi, A. (2022). Identifikasi Jumlah Angka Kuman Pada Dispenser Metode Tpc (*Total Plate Count*). *Jurnal Sago Gizi Dan Kesehatan*, 4(1), 38. <https://doi.org/10.30867/Gikes.V4i1.1052>
- Terrones-Fernandez, I., Casino, P., López, A., Peiró, S., Ríos, S., Nardi-Ricart, A., García-Montoya, E., Asensio, D., Marqués, A. M., Castilla, R., Gamez-Montero, P. J., & Piqué, N. (2023). Improvement Of The *Pour Plate Method* By Separate Sterilization Of Agar And Other Medium Components And Reduction Of The Agar Concentration. *Microbiology Spectrum*, 11(1). <https://doi.org/10.1128/Spectrum.03161-22>
- World Health Organization. (2023). *Drinking-water*. Retrieved September 15, 2025, from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>.
- Wulandari, S., & Hidayat, F. (2025). Identifikasi Kerusakan Sel Akibat Cekaman Termal pada Metode *Pour Plate* dan Pengaruhnya terhadap Underestimation Nilai TPC. *Jurnal Mutu Pangan dan Mikrobiologi*, 10(1), 27-35.
- Yastanto, A. J. (2020). Karakteristik pertumbuhan jamur pada media PDA dengan metode pour plate. *Indonesian Journal of Laboratory*, 2(1), 33-39. <https://doi.org/10.22146/ijl.v2i1.54491>
- Yunita, M., Hendrawan, Y., Yulianingsih, R., Keteknikan, J., Teknologi, P.-F., Brawijaya, P.-U., Veteran, J., & Korespondensi, P. (2015). Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood ACS*) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) Dengan Metode *Pour Plate*. In *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem* (Vol. 3, Issue 3)