

## PEMERIKSAAN *Escherichia coli* PADA DEPOT AIR MINUM ISI ULANG DIKECAMATAN KOTA KUALA SIMPANG

### EXAMINATION OF *Escherichia coli* IN REFILL DRINKING WATER-DEPOTS IN THE DISTRICT OF THE CITY OF KUALA SIMPANG

<sup>1\*</sup>Eka Margaret Sinaga, <sup>1</sup>Erly Sitompul, <sup>3</sup>Elly Sitorus

<sup>1</sup>Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

<sup>3</sup>Badan Pengawasan Obat dan Makanan

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Email: [ekamargaret15@gmail.com](mailto:ekamargaret15@gmail.com)

**Abstrak.** Ketersediaan air bersih semakin berkurang seiring berkembangnya pertumbuhan padat penduduk. Banyak rumah tangga yang memilih Air Minum Isi Ulang sebagai alternatif karena harganya yang relatif murah. Namun tidak ada yang bisa menjamin bakteri patogen yang terdapat dalam Air Minum Isi Ulang. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri *Escherichia coli* pada Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Kota Kuala simpang. Jenis penelitian ini deskriptif dengan pendekatan observasional. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh Depot Air Minum Isi Ulang yang ada di Kecamatan Kota Kuala simpang pada Tahun 2018 yang berjumlah sebanyak 21 Depot Air Minum Isi Ulang. Sampel penelitian adalah air galon yang didistribusikan, sampel ini diambil dari 5 Depot Air Minum Isi Ulang yang terpilih menggunakan metode *Random Sampling*. Hasil penelitian tidak menunjukkan adanya bakteri *Escherichia coli* pada Air Minum Isi Ulang tetapi yang ada hanya bakteri patogen *Coliform*. Kualitas air tersebut berarti sesuai dengan standar Permenkes RINo.492/MENKES/PER/IV/2010 tentang syarat-syarat kualitas air minum, dimana air minum tidak boleh mengandung bakteri didalamnya

**KataKunci:** Kualitas Air, Depot Air Minum Isi Ulang, Bakteri *Escherichiacoli*

**Abstract.** The availability of clean water is decreasing along with the development of dense population growth. Many households choose Refill Drinking Water as an alternative because the price is relatively cheap. However, no one can guarantee the pathogenic bacteria contained in Refill Drinking Water. This study aims to determine the presence of *Escherichia coli* bacteria in refill drinking water in Kuala simpang City. This type of research is descriptive with an observational approach. The population in this study were all Refill Drinking Water Depots (DAMIU) in Kuala simpang City in 2018, totaling 21 Refill Drinking Water Depots (DAMIU). The research sample was distributed gallon water, this sample was taken from 5 Refill Drinking Depots which were selected using the *Random Sampling* method. The results of the study did not show the presence of *Escherichia coli* bacteria in refilled drinking water but only *Coliform* pathogenic bacteria. The quality of the water means that it is in accordance with the standards of the Minister of Health of the Republic of Indonesia No.492/MENKES/PER/IV/2010 concerning the requirements for the quality of drinking water, where drinking water must not contain bacteria in it.

**Keywords:** Water Quality, Refill Drinking Water Depot, *Escherichia coli* Bacteria

## PENDAHULUAN

Air merupakan salah satu sumber daya alam yang memiliki fungsi sangat penting bagi kehidupan dalam memajukan kesejahteraan umum sehingga merupakan modal dasar dan factor utama pembangunan. Air juga merupakan komponen penting bagi kelangsungan hidup lainnya. Ini dapat dilihat fakta bahwa 70 % permukaan bumi adalah air dan dua per tiga tubuh manusia terdiri dari air [1]. Kadar air dalam tubuh harus seimbang pada kadar normalnya. Bila terjadi suatu keadaan dimana kadar air di dalam tubuh turun dari kadar yang seharusnya, tubuh secara langsung akan meminta penggantian kadar air yang hilang. Karena itulah, kita merasa haus dan memerlukan minum. Demikian pula halnya jika saat kadar air sudah lebih dari mencukupi, maka tubuh akan mengeluarkan kelebihan air itu melalui urin[2]. Tingginya kebutuhan masyarakat akan air minum, terutama di perkotaan mendorong timbulnya industri-industri Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) dan Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU). Secara nasional kebutuhan air di tingkat rumah tangga

di Indonesia mencapai lebih dari 20 L per hari bahkan sampai 100 L per hari. Menurut hasil Risdasdas[3], sumber air yang digunakan oleh rumah tangga di Indonesia sebagai air minum yaitu antara lain, sumber gali terlindung (24,7%), air ledeng (14,2%), sumur ber/pompa (14,0%) dan air dari depot air minum (DAM) (13,8%). Sementara itu berdasarkan tempat tinggal baik dipertanian maupun dipedesaan sumber utama air untuk minum cukup bervariasi [4]. Ketersediaan air bersih semakin berkurang seiring dengan perkembangan pertumbuhan penduduk. Padatnya pertumbuhan penduduk menyebabkan rendahnya kemampuan tanah untuk menyerap air karena perubahan tata guna tanah yang tidak terkendali sebagai dampak kepadatan penduduk. Agar dapat memenuhi kebutuhan air bagi masyarakat, menjadi alasan tumbuhnya industrialisasi dalam penyediaan air minum dengan dukungan kondisi geografi daerah yang mempunyai beberapa sumber air pegunungan[5]. Air minum dalam kemasan (AMDK) menjadi alternatif lain sebagai sumber air minum, namun harga AMDK dari berbagai merek yang relatif mahal menyebabkan AMDK sebagian besar hanya dikonsumsi oleh masyarakat tingkat ekonomi menengah ke atas. Hal ini menyebabkan air menjadi benda ekonomi yang mahal sehingga masyarakat mencari alternatif lain untuk mendapatkan air yang layak minum, yaitu air minum dari depot dengan harga yang lebih murah[5]. Ada beberapa cara yang saat ini sering digunakan dalam mengolah air baku untuk air minum isi ulang yaitu ozonisasi, sinar ultraviolet dan *reverse osmosis*. Apabila kurang baik dalam proses pengolahannya, maka air tersebut dapat tercemar oleh bakteri patogen contohnya *Escherichia coli*[6]. Salah satu persyaratan kualitas air minum adalah kehadiran bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*. Bakteri patogen lain yang terdapat dalam air yaitu *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* yang menyebabkan penyakit dan keluhan diare seperti disentri, tifus, dan kolera[1]. Oleh karena itu perlu dilakukan pengawasan dan pemantauan terhadap kualitas air minum khususnya air minum isi ulang. Air minum dengan kualitas yang buruk akan sangat berdampak bagi kesehatan. Air dapat menjadi media penyebaran penyakit-penyakit tertentu misalnya diare. Air yang tercemar oleh fekal akan terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare[6]. *Escherichia coli* adalah bakteri gram negatif, berbentuk pendek, mempunyai flagel. Infeksi *Escherichia coli* berupa diare yang disertai darah, kejang perut, demam dan dapat menyebabkan gangguan pada ginjal. Penyebaran *Escherichia coli* sebagian besar ditularkan melalui makanan yang tidak dimasak dan daging yang terkontaminasi. Penularan penyakit dapat terjadi melalui kontak langsung dan biasanya terjadi ditempat yang memiliki sanitasi lingkungan yang kurang bersih[7].

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kaca, tabung reaksi (pyrex), tabung durham, cawan petri, pipet ukur (Pyrex), botol tertutup steril, osebulat, *incubator*, lampu spiritus, autoklaf.

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel air minum isi ulang pada depot air minum isi ulang, *Lactose Broth* (LB), *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) merk, *Simmons Citrate Agar* (SCA), media metyl red-vogesproskauer (MR-VP), media SIM, kovaks, metyl red, KOH 40%, pereaksi indol, media Gula-Gula (Glukosa, Maltose, Manitol, Laktosa).

## Prosedur Penelitian

### 1. Pembuatan Media *Lactosa Broth* (LB)

Komposisi:

Ekstrak Beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Air suling	1000ml

Pembuatan: Semua bahan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dilarutkan dalam air suling hingga 800ml, dipanaskan sampai larut, dicukupkan sampai 1000ml aquadest, kemudian disterilkan dalam

autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

## 2. Pembuatan *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB)

Komposisi:

Pepton	10 g
Laktosa	10 g
Air suling	500ml

Pembuatan: Ditimbang exgal 120 lalu dilarutkan dalam 200ml air suling dan diukur pH antara 7,0 dan 7,5 lalu di campur dengan semua larutan, ditambahkan air suling sampai volumenya mencapai 97,5ml lalu atur lagi ph 7,4 lalu ditambahkan larutan brilliant green 0,1% dalam air sebanyak 13,3ml ditambahkan air suling sampai volume menjadi 1 liter lalu disaring dengan kapas lalu dibagi dalam tabung reaksi T 121°C selama 10 menit.

## 3. Pembuatan Eosin Methylene Blue Agar (EMBA)

Komposisi:

Pepton	10gram
Laktosa	5gram
Sukrosa	5gram
Dipotassiumphosphate	2 gram
Eosin Y	0,4gram
Methyleneblue	0,065gram
Distilledwater	1 liter

Pembuatan: Timbang 37,5gram (sesuaikan pada botol Medi EMB) bubuk media EMB, larutkan dengan aquadest sebanyak 1liter, panaskan sampai mendidih untuk melarutkan media, sterilkan dalam autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit, kemudian tunggu suhu sampai hangat-hangat kuku (45°C-50°C), homogenkan dan tuang kedalam cawan petri steril.

## 4. Pembuatan Media Semisolid Indol Motiliti (SIM)

Komposisi	(30g/L)
Pepton dari Casein	200 g
Pepton dari daging	6,1 g
Ferri Amonium Sulfat	0,2 g
Natrium Thio sulfat	0,2 g
Agar	3,5 g
Air suling hingga	1000 ml

Pembuatan: Ditimbang medium SIM sebanyak 3 g, dilarutkan dalam 100ml lalu dipanaskan diatas penan gas air hingga melarut. Disterilkan pada T 121°C selama 15menit.

## 5. Pembuatan Media MR/VP

Timbang 4,25 gram bubuk MR-VP, dilarutkan dalam 250 ml aquadest dipanaskan menggunakan hotplate, lalu aduk perlahan hingga homogen dan jernih menggunakan magnetic stirrer atau batang pengaduk, kemudian disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1atm selama 15menit, lalu distribusikan kedalam tabung reaksi steril masing-masing sebanyak 3-5 ml secara aseptis.

## 6. Pembuatan Media Gula-Gula (Glukosa, Maltose, Mannitol, Sukrosa)

Media gula-gula yang terdiri dari glukosa, maltosa, mannitol, sukrosa ditimbang sebanyak 1 gr lalu masukkan kedalam gelas beker yang telah berisi 100ml aquadest. Lalu tambahkan pepton water sebanyak 1 gr kedalam gelas beaker. Panaskan dengan hotplate pada suhu 150°C selama 10menit. Selagi dipanaskan, beri sedikit bromkresolpurpur sampai warna larutan berubah menjadi ungu. Setelah itu tuang sebanyak 4ml pada tabung reaksi dan masukkan tabung durham dan beri label masing-masing tabung reaksi. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, setelah dingin

masukkan kedalam kulkas bersuhu 3<sup>0</sup>C.

### 7. Pembuatan Media Simmon Citrate Agar (Sitrat)

Media sitrat ditimbang sebanyak 1,5 gr lalu masukkan kedalam gelas beaker yang telah berisi 50mL aquadest. Panaskan dengan *hotplate* pada suhu150<sup>0</sup>C selama 15menit. Setelah itu tuang sebanyak 4ml pada tabung reaksi. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C. Posisikan tabung secara miring sebesar45<sup>0</sup>C, setelah dingin masukkan kedalam kulkas bersuhu 3<sup>0</sup>C. Ambil koloni bakteri yang telah tumbuh pada media EMB dan IMVIC menggunakan ose bulat yang telah dipanaskan hingga pijar dan didiamkan beberpa saat lalu goreskan ose pada permukaan media sitrat (bagian lereng media). Letakkan media pada incubator selama 24 jam. Hasil positif pada uji sitrat adalah adanya perubahan warna media menjadi biru

### 8. Pembuatan Media Triple Sugar Iron Agar(TSIA)

Media TSIA ditimbang sebanyak 1,5 gr lalu masukkan kedalam gelas beaker yang telah berisi 50ml aquadest. Panaskan dengan *hotplate* pada suhu150<sup>0</sup>C selama 15menit. Setelah itu tuang sebanyak 4mL pada tabung reaksi. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C. Posisikan tabung secara miring sebesar 45<sup>0</sup>C, setelah dingin masukkan kedalam kulkas bersuhu 3<sup>0</sup>C. Siapkan ose jarum, panaskan hingga pijar lalu diamkan beberapa saat. Ambil koloni bakteri pada media EMB dan IMVIC lalu goreskan ose pada permukaan media TSIA (bagian lereng/miring media), kemudian tusukkan ose secara lurus tepat di tengah media (sekali tusuk). Letakkan media pada incubator selama 24jam. Hasil positif pada uji TSIA adalah adanya perubahan warna medium menjadi kuning dan terbentuknya gas sehingga medium terangkat keatas

### 9. Tes Perkiraan Pengujian Most Probale Number(MPN)

Dalam tes perkiraan digunakan 3 x 10 ml, 3 x 1 ml, dan 3 x 0,1 ml. disiapkan 9 tabung pyrex steril yang telah berisi 10 ml media *Lactosa Broth* dengan tabung durham terbalik. Sampel di pipet masing-masing 10 ml, masukkan kedalam tabung reaksi, maka diperoleh pengenceran 10<sup>-1</sup>. Selanjutnya 1 ml sampel dimasukkan kedalam 3 tabung reaksi, maka diperoleh pengenceran 10<sup>-2</sup>. Kemudian sebanyak 0,1 ml sampel di masukkan kedalam tabung reaksi, maka di peroleh pengenceran 10<sup>-3</sup>. Lalu inkubasi pada suhu35<sup>0</sup>C selama 2x24 jam. Diamati terbentuknya gas pada tabung reaksi.

### 10. Tes Penegasan(Tahap I) Pengujian Most Probale Number(MPN)

Proses tes penegasan adalah ditanam 1ose dari tabung yang positif gas dari medium LB dan pengujian tes perkiraan kedalam tabung yang berisi 10ml BGLB yang didalamnya terdapat tabung durham terbalik. Selanjutnya diinkubasi selama24-48 jam pada suhu 35<sup>0</sup>C. Diamati terbentuknya gas pada tabung reaksi. Hasil pengamatan positif, jika pada tabung durham terbentuk gas atau medium berwarna hijau keruh.

### 11. Tes Kesempurnaan(Tahap II) Pengujian Most Probale Number(MPN)

Tes kesempurnaan dilakukan sebagai kelanjutan dari uji-uji yang dilakukan dari uji tes penegasan yang positif (adanya gas pada tabung durham).Ambil 1 ose dari tabung BGLB yang positif, kemudian dilakukan goresan atau streak pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB). Inkubasi plate EMB pada suhu35<sup>0</sup>C selama 24 jam. Hasil *streak* dinyatakan positif jika terdapat koloni yang berwarna hijau sampai kebiruan mengkilat (*Methalic Shine*). Kemudian dilanjutkan dengan uji Biokimia dan IMVIC.

### 12. Pewarnaan Gram

Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan. Jarum ose dan mulut tabung di bakar terlebih dahulu agar steril, cuci gelas objek dengan alkohol 70% lalu difiksasi, kemudian fiksasi objek glass pada lampu spiritus yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan di beri aquadest. Letakkan satu tetesair suling pada gelas objek. Suspensikan satu ose biakkan koloni bakteri, ratakan dan fiksasi

diatas nyala api tetapi jangan terlalu lama diatas nyala api, lalu tambahkan satu tetes gentian violet selama 2 menit. Lalu dibilas dengan air mengalir (aquadest), tambahkan satu tetes larutan lugol, ratakan diamkan selama 1-2 menit dan fiksasi. Kemudian cuci objek glass dengan alkohol 70 % sampai tetesan terakhir tidak berwarna, keringkan, setelah itu tambahkan satu tetes safrain, biarkan 15-30detik, cuci larutan safrain dengan air suling steril, keringkan. Tetesi dengan minyak imersi (imersi oil), lalu lihat pada mikroskop dengan perbesaran 100 kali, amati warna dan bentuk dari bakteri. Warna ungu/violet menunjukkan bakteri Gram positif, dan warna merah jambu(pink) menunjukkan bakteri Gram negatif.

### 13. Uji Biokimia

Uji gula yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolate bakteri dalam menghidrolisis karbohidrat dengan menggunakan 5 jenis gula yaitu glukosa, laktosa, sukrosa, maltose, manitol. Media gula-gula(glukosa, laktosa, sukrosa, maltose, manitol). Glukosa: masukkan ketabung reaksi yang berisi tabung durham 5 ml dan tutup dengan kapas, beri label. Sukrosa: masukkan ketabung reaksi yang berisi tabung durham 5 ml dan tutup dengan kapas, beri label. Laktosa: masukkan ketabung reaksi yang berisi tabung durham 5 ml dan tutup dengan kapas, beri label. Maltose: masukkan ketabung reaksi yang berisi tabung durham 5 ml dan tutup dengan kapas, di beri label. Manitol: masukkan ketabung reaksi yang berisi tabung durham 5 ml dan tutup dengan kapas, di beri label. Semua tabung di inkubasi selama 2x24 jam dengan suhu 35<sup>0</sup>C.

### 14. Uji indol

Uji Indol digunakan untuk bakteri yang dapat memproduksi indol dari pemecahan asam amino tryptopan dengan menggunakan enzim tryptopan. Dari biakkan EMBA ditanam 1 ose biakkan kedalam *tryptone broth*. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 35<sup>0</sup>C, setelah diinkubasi tambahkan 0,2-0,3 ml preaksi kovaks kedalam masing-masing tabung. Kocok dan diamkan selama beberapa menit. Warna merah *cherry* pada permukaan membentuk cincin menandakan reaksi indol positif, warna merah menunjukkan reaksi indol negatif.

### 15. Uji Merah Metil

Uji Merah Metil digunakan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi dan memelihara kestabilan asam dari proses akhir fermentasi glukosa. Dari biakkan EMBA ditanam 1 ose biakkan kedalam pembedihan MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 35<sup>0</sup>C, setelah diinkubasi tambahkan 5 tetes metalred, dikocok dan diamkan selama beberapa menit. Warna kuning menunjukkan reaksi negatif, dan warna merah menunjukkan reaksi positif.

### 16. Uji VP(Voges Proskaver)

Uji VP (*Voges proskaver*) digunakan untuk mendeteksi adanya butylenesglycol yang diproduksi oleh bakteri. Dari biakkan EMBA ditanam 1 ose biakkan kedalam pembedihan MR-VP. Diinkubasi selama 24jam dengan suhu 35<sup>0</sup>C, setelah diinkubasi tambahkan 3 tetes larutan alfa naftol dan 2 tetes larutan KOH40%, dikocok dan diamkan selama beberapa menit. Warna merah muda sampai merah tua menunjukkan hasil positif, dan jika tidak berubah warna maka menunjukkan hasil negatif.

### 17. Uji Sitrat

Uji sitrat dari biakkan EMBA, diinokulasi 1 ose biakkan kedalam media simmons citrate. Kemudian diinkubasi selama 24jam dengan suhu 35<sup>0</sup>C. warna biru menunjukkan reaksi positif, sedangkan warna hijau menunjukkan reaksi negatif.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Uji MPN

Hasil pemeriksaan Air Minum Isi Ulang, pada tes awal yaitu uji pendugaan yang dilakukan di media *Lactosa Broth* (LB) dengan tiga pengenceran yaitu 10ml, 1ml, 0,1ml dan tiga seri tabung persampelnya membuktikan bahwa terbentuknya gas pada tabung durham[4]. Hasil tes uji

pendugaan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1. Hasil Pada Media *Lactosa Broth***

No	Kode Sampel	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$
1	Sampel A	---	---	---
2	Sampel B	---	---	---
3	Sampel C	---	---	---
4	Sampel D	---	---	---
5	Sampel E	+++	---	+-

Dari penanaman sampel sebanyak 5 pada uji penduga membuktikan bahwa sampel E telah tercemar oleh bakteri, hal ini menunjukkan pembentukan gas pada tabung durham yang berisi media Laktosa Broth dinyatakan positif. Sampel pada uji penduga yang terbukti positif maka dilanjutkan pada uji penegasan pada media *Briliant Green Lactose Broth* (BGLB) pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Hasil dari uji penegasan dapat dilihat pada **Tabel 2**.

**Tabel 2. Hasil Inkubasi pada Media *Briliant Green Lactose Broth***

No	Kode Sampel	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$
1	Sampel A	---	---	---
2	Sampel B	---	---	---
3	Sampel C	---	---	---
4	Sampel D	---	---	---
5	Sampel E	+++	---	+-

Sampel yang positif pada media LB yang telah timbul gas dan perubahan warna, diambil menggunakan jarum ose dan diinokulasi ke dalam media BGLB. Lalu diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam. Terdapat gas pada tabung durham pada sampel E. Tabung yang menghasilkan gas dari uji penegasan dirujuk ke tabel MPN, angka yang diperoleh dari tabel MPN menyatakan jumlah bakteri koliform dalam gram atau tiap ml yang diuji. Tabung Uji MPN dinyatakan positif terdapat bakteri *Coliform*. Hal ini ditunjukkan pada saat setelah diinkubasi terjadi perubahan kekeruhan pada cairan dan terbentuk gas pada tabung durham, sedangkan uji MPN dinyatakan negative apabila tidak terjadi kekeruhan dan tidak terdapat gelembung gas pada tabung durham. Pengujian MPN ada 5 sampel yang diperiksa memiliki hasil yang beragam. Hasil uji MPN akan dianalisa menggunakan tabel MPN seri 3 tabung yang dikeluarkan oleh SNI2897:2008 untuk melihat jumlah *Coliform*.

**Tabel 3. Hasil Perhitungan dengan Indeks MPN**

No	Kode Sampel	Jumlah tabung positif	MPN/ g
1	Sampel A	0 0 0	<3,6
2	Sampel B	0 0 0	<3,6
3	Sampel C	0 0 0	<3,6
4	Sampel D	0 0 0	<3,6
5	Sampel E	3 0 1	39

Dari hasil pemeriksaan pada media *Briliant Green Lactosa Broth* (BGLB) didapat hasil perhitungan dengan indeks MPN yang tertera pada **Tabel 3**. Diketahui bahwa Air Minum isi Ulang di Kecamatan Kota Kuala Simpang sebanyak 1 sampel tercemar bakteri *Coliform* yang jumlahnya melebihi batas normal sesuai dengan SNI2897:2008 yaitu <3/g.

### Hasil Uji EMBA

Tabung reaksi yang bersifat adanya gas dan asam di media BGLB, ditanam pada media-media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dengan suhu  $35^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Koloni bakteri *Eschericia coli* (*coliform fecal*) tumbuh berwarna merah kehijauan dengan kilat metalik [4]. maka hasil yang diperoleh pada **Tabel 4**.

**Tabel 4. Hasil inkubasi pada media *Eosin Methylen Blue Agar***

No	Kode Sampel	Bentuk	Warna pigmen	Koloni	Sifat
1	Sampel A	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
2	Sampel B	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
3	Sampel C	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
4	Sampel D	Bulat	Putih jernih	Basah	Tidak meragikan laktosa
5	Sampel E	Bulat	Kilap logam	Basah	Meragikan laktosa

Setelah dilakukan pada pembiakan media *Eosin Methylen Blue Agar*(EMBA) dengan suhu 35<sup>0</sup>C ada sampel yang telah diuji, hasil berwarna putih jernih dan bersifat tidak meragikan laktosa, sedangkan sampel E didapatkan hasil dengan bentuk koloni berwarna kilap logam dan meragikan laktosa yang diduga adalah bakteri *Escherichiacoli*. Media *Eosin Methylen Blue Agar*(EMBA) mengandung eosin dan media EMBA memiliki kandungan laktosa sehingga bakteri gram negatif yang tumbuh akan terdiferensiasi berdasarkan sifatnya yang dapat meragi laktosa[8].

### Hasil Pewarnaan Gram dari Isolasi EMBA

Hasil penelitian setelah pewarnaan gram dari medium *Eosin Methylen Blue Agar*(EMBA) memberikan hasil berupa warna merah dan koloni yang berbentuk batang (kokobasi). Warna merah yang dihasilkan tersebut menandakan bahwa bakteri tersebut adalah bakteri gram negative karena bakteri tersebut memiliki dinding sel yang tipis sehingga warna yang terserap adalah warna sekunder yaitu safrain[8]. Media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) merupakan media diferensial untuk *Escherichia coli*[9].

### Hasil Uji Biokimia

Setelah dilakukan pengujian pada media *Eosin Methylen Blue Agar* dilanjutkan pengujian biokimia dari 5 sampel diambil 1 sampel yang positif. Hal ini dikarenakan sampel tersebut telah memenuhi syarat atau kriteria dari uji biokimia. Uji biokimia terdiri dari uji Gula-Gula dan uji IMViC (Indol, Methyl Red, Voges Proskauer, dan Citrat). Pentingnya uji biokimia ini dapat digunakan untuk mengidentifikasi mikroorganisme secara fisiologis berdasarkan reaksi uji biokimia.

**Tabel5.Hasil pembiakkan pada Media Gula-Gula**

Kode Sampel	Glukosa	Laktosa	Maltose	Manitol	Sukrosa
Sampel E	+ /gas				

Uji Gula-gula menggunakan 5 jenis gula yaitu glukosa, Laktosa, Maltose, Manitol, Sukrosa. Menurut penelitian sebelumnya [10], uji Gula-gula merupakan salah satu uji biokimia, bakteri yang bersifat gram negatif juga perlu di uji dengan uji Gula-Gula yang bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan fermentasi bakteri terhadap karbohidrat. Hasil yang didapat dari uji Gula-gula yaitu terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi kuning keruh dan adanya gas pada tabung durham, hal ini menunjukkan bahwa bakteri ini mampu memfermentasikan karbohidrat dan adanya ciri-ciri dari bakteri *Escherichia coli* pada uji Gula-gula tersebut. Hasil dari penelitian Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Kota Kuala simpang ini sama dengan penelitian lain [2] pada 5 sampel yang diuji hanya 1 yang positif dengan terjadinya perubahan warna media dari hijau menjadi kuning keruh dan terbentuknya gas pada tabung durham.

**Tabel 6. Hasil Uji IMViC**

Kode Sampel	Indol	Methyl Red	Voges Proskauer	Simmon Citrat
Sampel E	+	+	-	-

Uji indol bertujuan untuk mengidentifikasi kemampuan bakteri yang menghasilkan indol dengan menggunakan enzim *tryptophanase*. *Tryptophan* adalah asam amino esensial, yang mengakibatkan pembentukan indol, asam piruvat, dan ammonia [11]. Hasil uji indol pada bakteri *Escherichia coli* adalah positif yang ditandai dengan adanya cincin merah pada bagian atas, hal ini disebabkan karena indol bereaksi dengan aldehid. Namun karena cincin mudah memudar oleh gerakan secara

tiba-tiba, cincin menjadi pecah dan menghasilkan warna merah muda. Uji *Methyl Red* bertujuan untuk mendeteksi kemampuan organis dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. *Methyl Red* adalah indikator pH, yang tetap berwarna merah pada pH 4,4 dan berwarna kuning pada pH 6,2. Hasil pengamatan untuk uji MR pada isolate bakteri *Escherichia coli* adalah positif yang ditandai dengan larutan berwarna merah. Uji *Voges Proskauer* adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi acetoin dalam kultur cair bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan *alpha-naftol* dan kalium hidroksida dengan kaldu *Voges Proskauer* yang telah di inokulasi dengan bakteri. Warna merah menunjukkan hasil yang positif, sedangkan warna kuning-coklat atau tidak berwarna merupakan hasil negatif. Uji ini negatif untuk *Escherichiacoli* karena *Escherichiacoli* memfermentasikan karbohidrat menjadi produk asam dan tidak menghasilkan produk netral seperti *asetonin*. Uji sitrat bertujuan untuk mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sebagai satu-satunya sumber karbon atau energy. Jika bakteri tersebut mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya, maka akan menaikkan pH dan dapat mengubah warna medium biakkan dari warna hijau menjadi biru. Uji ini negatif untuk *Escherichi coli* karena *Escherichia coli* tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon

### Pembahasan

Penelitian ini menggunakan Air Minum Isi ulang di Kecamatan Kota Kuala Simpang. Metode yang digunakan adalah metode MPN (*Most Probable Number*) dengan menggunakan seri tabung 3-3-3. Berdasarkan hasil penelitian dari sampel Air Minum Isi Ulang, setelah dilakukan pemeriksaan pada uji pendugaan, uji penegasan, dan uji biokimia yang telah dilakukan secara aseptis dan kemudian pada suhu 37°C selama 24 jam, terdapat 1 Depot Air Minum Isi Ulang tercemar bakteri *Escherichia coli* dan sebanyak 4 tidak tercemar oleh bakteri *Escherichia coli* tetapi tercemar bakteri patogen *Coliform*. Bakteri *Escherichiacoli* mempunyai daya tahan yang lebih rendah dibandingkan *Coliform* jenis lain, sehingga dapat dimungkinkan keberadaan *Escherichia coli* di lingkungan sekitar produsen air minum isi ulang lebih sedikit. *Coliform* sendiri merupakan suatu kelompok yang dicirikan sebagai bakteri yang berbentuk batang, gram negatif, tidak membentuk spora, aerobik dan anaerobik fakultatif yang memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu 48jam pada suhu 35°C. jika dalam air minum isi ulang terkontaminasi bakteri *Coliform* dapat membahayakan, diantaranya bias menyebabkan sakit perut yang akut, disentri amuba, diare, dan kolera[12]. Hasil penelitian dari 5 sampel Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Kota Kuala simpang hanya 1 yang positif tercemar bakteri *Escherichiacoli*. Hal ini menandakan bahwa pemilik Depot Air Minum Isi Ulang kurang memperhatikan kualitas dan kebersihan depot tersebut. Untuk mendapatkan Air Minum yang layak untuk diminum menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 492/Menkes/per/IV/2010 tentang persyaratan kualitas air minum pada *Escherichiacoli* dan *Coliform* dalam jumlah per 100ml adalah 0. Karena itu pemilik Depot Air Minum Isi Ulang juga harus memperhatikan kebersihan dan sanitasi saat pengolahan atau pengemasan kedalam Galon Isi Ulang pembeli. Berdasarkan hasil wawancara yang di dapat untuk Depot Air Minum Isi Ulang sampel E memiliki ciri-ciri yang kurang baik. Sumber air yang diperoleh dari PDAM, proses pengolahan yang kurang optimal, letak depot sangat dekat dengan pembuangan sampah, sehingga kemungkinan besar air akan tercemar dan terkontaminasi oleh bakteri. Selain itu kondisi depot juga kurang terawat dan tidak adanya pengawasan khusus dari Dinas Kesehatan. Dilihat dari ciri-ciri tersebut kemungkinan besar terjadinya pencemaran *Escherichia coli* pada Air Minum Isi Ulang sampel E. Pada umumnya Depot Air Minum Isi Ulang yang baik dan sehat harus memenuhi syarat peraturan perundang-undangan air minum yang layak dan sehat. Depot air yang layak itu meliputi kebersihan bangunan, lantai, dinding, atap, ventilasi, dan fasilitas sanitasi dasar seperti tempat saluran pembuangan air limbah, tempat pembuangan sampah, tempat mencuci tangan dan tempat sabun maupun binatang pembawa penyakit seperti lalat, tikus dan kecoa. Kondisi sekitar lingkungan yang kotor akan mempengaruhi jumlah cemaran mikroba terhadap air minum isi ulang yang diproduksi. Semakin buruk kebersihan dan sanitasi bangunan depot maka cemaran mikroba juga akan semakin meningkat. Selain itu kebersihan pekerja juga dapat mempengaruhi kualitas air

minum isi ulang yang diproduksi. Disamping factor kesehatan pekerja juga harus diperhatikan. Pekerja tidak boleh dalam keadaan sakit atau terinfeksi bakteri atau virus. Karena penyakit atau infeksi bias ditularkan melalui peralatan produksi pada system pengolahan air minum yang kontak langsung dengan pekerja. Selain faktor tempat dan pekerja yang menjadi faktor penting dalam menjaga kualitas air minum isi ulang adalah peralatan yang digunakan, seperti air baku, tangki, perpipaan dan system pengolahan. Harus dipastikan bahwa tangki yang digunakan dalam kondisi yang bersih dan steril dari cemaran mikroba serta system pengolahan berjalan dengan baik. Dalam system pengolahan air minum isi ulang dibutuhkan sinar *Ultra violet* yang berfungsi membunuh bakteri pada air yang diolah. Harus dipastikan setiap depot memiliki sinar UV sebagai media desinfeksi (Pembunuh) bakteri yang terdapat pada air olahan sehingga mikroba dapat diminimalisir. Kualitas air baku yang digunakan sebagai sumber untuk Depot Air Minum Isi Ulang juga harus diperhatikan dan bebas dari cemaran mikroba. Hygienesanitasi adalah upaya kesehatan untuk mengurangi atau dapat menghilangkan faktor-faktor yang menjadisebabterjadinyapencemaran terhadap air minum dan sarana yang digunakan untuk proses pengolahan, penyimpanan, dan pembagian air minum. Tujuan dari hygiene adalah terlindungnya masyarakat dari potensi pengaruh buruk akibat konsumsi air minum yang berasal dari depot air minum isi ulang. Dengan demikian masyarakat akan terhindar dari kemungkinan terkena penyakit bawaan air. Disamping itu upaya pembinaan dan pengawasan terhadap usaha depot air minum yang baik akan mendorong pertumbuhan ekonomi nasional membuka lapangan kerja dan meningkatkan pendapatan masyarakat[13]. Berdasarkan dari hasil penelitian yang dilakukan bahwa masih banyak air minum isi ulang yang dijual di Kecamatan Kota Kuala simpang yang belum memenuhi syarat Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010 tentang persyaratan kualitas air minum. Pada parameter mikrobiologi tersebut bahwa kandungan bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat dari jumlah per 100 ml sampel air dengan kadar maksimum yang diperbolehkan 0/100ml. pada parameter tersebut jika kandungan bakteri *Escherichia coli* dalam air melebihi batas yang ditentukan maka air minum tersebut tidak aman untuk dikonsumsi. Hal ini disesuaikan dengan penelitian Pakpahan[14], yang menyatakan bahwa penelitiannya terhadap 51 depot air minum isi ulang di Kecamatan Maulfa sebesar 51% dan 33,33 % telah tercemar *Escherichia coli*. Hasil analisis multivariate menunjukkan bahwa variable yang paling dominan mempengaruhi cemaran mikroba adalah pengetahuan operator, sanitasi DAMIU dan kebersihan pekerja. Sedangkan variable tidak berpengaruh adalah kualitas desinfektan, sikap pekerja, tingkah laku pekerja, pengemasan, dan kecepatan aliran air. Penelitian lain menunjukkan 4 dari 12 sampel (33,3 %) tidak memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No. 492 Tahun 2010. 12 sampel yang positif mengandung *Coliform*, terdapat 1 sampel (8,3%) yang mengandung bakteri *Escherichia coli*, Sementara 3 sampel lain mengandung *Coliform* lain [3].

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan secara mikrobiologi terhadap Depot Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Kota Kuala simpang diperoleh hasil yang menunjukkan dari 5 sampel yang diuji ada 4 Depot Air Minum Isi Ulang yang tidak tercemar bakteri *Escherichia coli* tetapi hanya tercemar bakteri patogen *Coliform*, dan sebanyak 1 Depot Air Minum Isi Ulang tercemar bakteri *Escherichia coli*.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Afif Fathoni, Erly, Endrinaldi, (2015). *Identifikasi Escherichia coli pada air minum Isi ulang di Kecamatan Padang Selatan*. Jurnal FK Unand.
- [2] Afrinasari I. (2016). *Identifikasi Bakteri Escherichia coli Pada Cincin Yang Di Jual Di Pasar Baru Stabat Kab. Langkat Menggunakan Metode Most Probable Number (MPN)*. Fakultas Farmasi Universitas Sari Mutiara Indonesia.
- [3] Afrisetiawati R., dkk., (2016). *Identifikasi Bakteri Escherichia coli pada Air Minum Isi Ulang yang Diproduksi DAMIU di Kelurahan Lubuk Buaya Kota Padang*. Jurnal Kesehatan Andalas.

- 
- [4] Alang.H. (2015).*Deteksi Coliform Air PDAM di Beberapa Kecamatan Kota Makassar*.Jurnal Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA, STKIP-PI.Makassar.
- [5] Arisman, M.B. (2009). *Buku Ajar Ilmu Gizi Keracunan makanan*. Jakarta.
- [6] Raharja T. Zulfikar. (2015). *Identifikasi Escherichia coli Pada Air Minum Isi Ulang Dari Depot Di Kelurahan Pisangan Dan Cindeu*.Universitas Islam Negeri SyarifHidayatullah Jakarta.
- [7] Radji, Maksun, Anglia Puspaningrum., dkk.(2010). *Deteksi Cepat Bakteri Escherichia Coli Dalam Sampel Air Dengan Metode Polymerase Reaction Menggunakan Primer 16E1 dan 16E2*.Makara Sains. Vol. 14 No.1.
- [8] Putri, D, Naftalena. (2015). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Pada Es Batu Yang DiJualwarung Nasi Di Kelurahan Pisangan Tahun 2015.*Jurnal*. Universitas PGRI Palembang.Hal.5-6.
- [9] Sari R.Pratiwi.(2016). *Analisis Kuantitatif Bakteri Escherichia coli Pada Air Minum Isi Ulang di wilayah Sungai Besar Kota Banjar Baru*. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina. (1), 26-35, 2016.
- [10] Cappuccino, JG, N. Sherman. *Microbiology A Laboratory Manual Edition 9<sup>th</sup>*. California: The Benjamin Cummings Publishing Company; 2012. P 323- 327.
- [11] Hemraj., V., (2013). *A Review On Commonly Used Biochemical Test For Bacteria*. India: Departemen of Pharmacy, L R Institute of Pharmacy, Solan (H.P).
- [12] Widiyanti, Ni Luh Putu, dan Ristiati, N.P., 2004. Analisis Kualitatif Pada Depot Air Minum Isi Ulang di Kota Singaraja Bali. *Jurnal Ekologi Kesehatan* Vol. 3 No. 1, April 2004
- [13] Direktorat Jenderal Pemberantasan Penyakit Menular dan Penyehatan Lingkungan Pemukiman., (2010).
- [1] Pakpahan, R.S., Intje P., dan Nyoman W. (2015). *Cemaranmikroba Escherichia coli dan Total Bakteri Koliform pada Air Minum Isi ulang*. Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional Vol.9 No.4.