

**UJI KANDUNGAN BAKTERI *Escherichia coli*
PADA AIR MINUM ISI ULANG DARI
DEPOT AIR MINUM ISI ULANG
DI KABUPATEN REMBANG**

**Testing of *Escherichia Coli* Bacteria Content in Drinking Water Refill
from Drinking Water Refill Depot in Rembang Sub-district**

Maulita Cut Nuria* Abdur Rosyid* Sumantri**

*Faculty of Farmasi Wahid Hasyim University Semarang

** Faculty of Farmasi Gadjah Mada University Jogjakarta

Abstract

Water refill is water that has through purification processes both Ultraviolet and ionization, by many stages of filtration to obtain clean water, in order to provide human needs. This research performed by Athena, et.al., (2003) to shows that *Total Coli* and *Escherichia coli* in high-enough amounts inside water refill from water refill depot (DAMIU) in Jakarta, Tangerang, and Bekasi. There are many efforts related with this water refill that causes DAMIU developed rapidly, so that required monitoring improvement because water is the primary needs of human being. This research aims to identify *Escherichia coli* bacteria content that exist in drinking water of water refill from DAMIU in Rembang Sub district. This research is survey type, equipped with *microbiology* test using MPN method (Most Probable Number). The populations are 25 DAMIU in Rembang sub-district. Data analysis performed descriptively. Test, conducted by water refill sampling, which produced by DAMIU in Rembang sub-district. The testing includes: approximation test using *Lactosa Broth* (LB) medium, confirmation test using *Briliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) medium, complementary test using *Mc. Conkey* medium and Gram painting was performed to identify bacteria types using microscope by 100 times magnification, and Biochemistry test that is IMVIC (*Indol*, *Methyl-Red*, *Voges Proskauer*, and *Citrat*). In water refill which produced by DAMIU in Rembang Sub district, there is 1 sample (4%) with MPN value of *E. coli* 13/100 ml and Coliform MPN 21/100 ml, does not fulfill the bacteriology requirements of drinking water quality, according to Health Minister Decree No.907/MENKES/SK/VII/2002 : “The existence of *E.Coli* bacteria 0/100 ml sample”, while 24 samples has fulfill the requirements, with MPN value of *E.Coli* and Coliform < 2, so that it safe and ready to consume.

Keywords: Water refill Depot (DAMIU), Most Probable Number (MPN), *Escherichia coli*

Pendahuluan

Air minum isi ulang adalah air yang mengalami proses pemurnian baik secara penyinaran Ultraviolet, Ozonisasi, ataupun keduanya melalui berbagai tahap filtrasi untuk mendapatkan air bersih yang dapat digunakan untuk berbagai keperluan. Pada era sekarang ini kesadaran masyarakat untuk mendapatkan air yang memenuhi syarat kesehatan semakin meningkat. Seiring dengan hal tersebut maka dewasa ini semakin menjamur pula Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) yang menyediakan air siap minum. Selain murah, air minum isi ulang juga bisa dijumpai di berbagai tempat, tetapi kemungkinan besar bisa ditumbuhi bakteri. Hal ini disebabkan karena tidak semua DAMIU melakukan pengolahan secara tepat dan benar, misalnya kualitas air baku yang digunakan, jenis peralatan yang digunakan, perawatan peralatan dan penanganan air hasil pengolahan. Selain itu pengolahan air minum di DAMIU tidak seluruhnya dilakukan secara otomatis sehingga dapat mempengaruhi kualitas air yang dihasilkan, dengan demikian kualitasnya masih perlu dikaji dalam rangka pengamanan kualitas airnya (Athena, dkk., 2003).

Menurut Surat Keputusan Menteri Kesehatan No. 907/Menkes/SK/VII/2002, salah satu parameter kualitas air minum yang dapat dikonsumsi adalah yang bebas dari bakteri *Escherichia coli*. Hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Athena, dkk., (2003) menunjukkan adanya bakteri *Total Coli* dan *E. coli* atau *Fecal Coli* dalam jumlah yang cukup tinggi dalam air minum isi ulang dari DAMIU di Jakarta, Tangerang, dan Bekasi. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai uji kandungan bakteri *E. coli* pada air minum isi ulang dari depot air minum isi ulang di Kabupaten Rembang.

Bahan dan Metode

Bahan dan alat yang digunakan

1. Bahan yang digunakan
Sampel air minum isi ulang, *Lactose Broth* (LB) Merck, *Lactose broth double strength* (LBDS) Merck, *Lactose broth single strength* (LBSS) Merck, *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) Merck, Mc. Conkey (Merck), Nutrien Agar (NA) Miring, Gram A, Gram B, Gram C, Gram D, *Simmons Citrate Agar* (SCA) Merck, *Media Metyl Red-Voges Proskauer* (MR-VP) Merck, pereaksi *Indole* (Merck), Metil Merah (Merck), Tryptone Broth (Merck), KOH 40% (Merck), Alkohol 96% (Merck), minyak *Immersi*.
2. Alat yang digunakan
 - a. Alat-alat gelas steril seperti: tabung reaksi (Pyrex), tabung durham, cawan petri, pipet ukur (Pyrex), botol bertutup steril, ose bulat.

- b. Alat-alat laboratorium seperti: Laminar Air Flow (Bio Safety BH 2000), autoklaf (Hirayama), incubator (Memert), lampu spiritus, mikroskop (Olympus).

Jalannya Penelitian

1. Pengambilan Sampel
Sampel air minum isi ulang diambil dari DAM IU di seluruh Kabupaten Rembang pada tanggal 14 Juli 2008 yang berjumlah 25 sampel.
2. Prosedur pemeriksaan
 - a. Tes Perkiraan
Dalam tes perkiraan digunakan sampel 5x10 ml, 1x1ml, dan 1x0,1 ml.
 - 1) Disiapkan 5 tabung yang masing-masing berisi 10 ml *Lactose broth double strength* (a1-a5), dan 2 tabung yang berisi masing-masing 5 ml *Lactose broth single strength* (b1,c1), masing-masing tabung dimasukkan tabung durham dengan posisi terbalik.
 - 2) Ke dalam tabung a1-a5 ditambahkan 10 ml sampel air.
 - 3) Ke dalam tabung b1 ditambahkan 1 ml sampel air.
 - 4) Ke dalam tabung c1 ditambahkan 0,1 ml sampel air.
 - 5) Kemudian semua tabung diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 35°C.
 - 6) Diamati apakah terbentuk gas pada tiap-tiap tabung, terbentuknya gas menandakan tes perkiraan positif dan dilanjutkan ke tes penegasan.
 - 7) Bila dalam kurun waktu 24-48 jam tidak terbentuk gas, tes perkiraan dinyatakan negatif, dan tidak perlu dilanjutkan ke tes penegasan.
 - 8) Hal yang sama dilakukan untuk semua sampel Air Minum Isi Ulang dan dibuat 3 kali replikasi untuk tiap-tiap sampel (Depkes RI, 1977).
 - b. Tes Penegasan
Proses tes penegasan adalah :
 - 1) Ditanam 1-2 ose biakan yang positif gas pada *Lactose Broth* (LB) dari pengujian tes perkiraan, ke dalam tabung yang berisi 5 ml *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) yang di dalamnya terdapat tabung durham terbalik.
 - 2) Untuk bakteri *Coliform* diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 35°C
 - 3) Untuk bakteri *E. coli* diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 42°C.

- 4) Dicatat tabung yang di dalamnya terbentuk gas (positif jika di dalamnya terbentuk gas).
 - 5) Banyaknya kandungan bakteri *E. coli/Coliform* dapat dilihat dengan menghitung tabung yang positif pada media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) dan dibandingkan dengan tabel MPN (Depkes RI, 1977).
- c. Tes pelengkap
- 1) Ditanam 1-2 ose biakan yang positif pada *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) ke pembenihan Mc. Conkey dalam cawan petri.
 - 2) Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.
 - 3) Diamati dan dipilih koloni yang berwarna merah menyala.
 - 4) Ditanam 1 Ose biakan pada Nutrien Agar Miring, diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C.
 - 5) Dilakukan pengecatan Gram (dari biakan NA Miring), untuk melihat adanya spora, dengan cara sebagai berikut:

Dibuat sediaan di atas alas kaca kemudian dikeringkan di udara. Lalu digenangi dengan cat Gram A selama 1 menit. Dicuci dengan air dan ditiriskan. Bubuhkan cat Gram B selama 1 menit. Dicuci dengan air kran dan ditiriskan. Dicuci (hilangkan warna) dengan cat Gram C selama 30 detik. Dicuci dengan air dan ditiriskan. Bubuhkan cat *Gram D* selama 10-30 detik. Dicuci dengan air kran, ditiriskan, lalu diserap dengan kertas saring. Setelah kering kemudian diperiksa di bawah mikroskop.

Hasil dinyatakan positif bakteri *E. coli*, jika menunjukkan Gram negatif berbentuk batang dan tidak membentuk spora (Depkes RI, 1977).
- d. Uji Blangko
- Uji blangko dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah media yang digunakan sudah steril atau terbebas dari cemaran bakteri. Uji blangko ini hanya melakukan tes pada media saja tanpa penambahan sampel.
- 1) Untuk media *Lactose broth double strength* dan *Lactose broth single strength* yang didalamnya terdapat tabung durham terbalik, diinkubasi selama 24-48 jam pada 35°C. Jika media tidak menghasilkan gelembung gas pada tabung durham terbalik, berarti media steril atau tidak tercemar bakteri.
 - 2) Media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB) yang di dalamnya terdapat tabung durham terbalik diinkubasi selama 24-48 jam dengan suhu 35°C dan 42°C. Jika media tidak

- menghasilkan gelembung gas pada tabung Durham terbalik, berarti media steril atau tidak tercemar bakteri.
- 3) Media Mc. Conkey dalam cawan petri diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Bila tidak ditemukan adanya koloni bakteri, berarti tidak tercemar kontaminan atau steril.
 - 4) Media Nutrien Agar Miring diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Bila tidak ditemukan adanya koloni bakteri, berarti tidak tercemar kontaminan atau steril (Depkes RI, 1977).
- e. Pengujian Biokimia (Uji IMVIC)
- 1) Uji Indol
Dari biakan NA Miring ditanam 1 sengkeli biakan ke dalam *tryptone broth*. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, ditambahkan 0,2-0,3 ml pereaksi indol ke dalam masing-masing tabung, kocok dan didiamkan selama beberapa menit. Warna merah *cherry* pada permukaan membentuk cincin menandakan reaksi indol positif, warna jingga menunjukkan reaksi indol negatif.
 - 2) Uji Merah Metil
Dari biakan NA Miring ditanam 1 sengkeli biakan ke dalam pembenihan MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi ditambahkan 5 tetes merah metil, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit. Warna kuning menunjukkan reaksi negatif dan warna merah menunjukkan reaksi positif.
 - 3) Uji VP (*Voges Proskauer*)
Dari biakan NA Miring ditanam 1 sengkeli biakan ke dalam pembenihan MR-VP. Diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Setelah diinkubasi tambahkan 3 tetes larutan *alfa naftol* dan 2 tetes larutan KOH 40%, dikocok dan didiamkan selama beberapa menit. Warna merah muda sampai merah tua menunjukkan hasil positif, dan jika tidak berubah warna maka menunjukkan hasil negatif.
 - 4) Uji Sitrat
Dari biakan NA Miring ditanam 1 sengkeli biakan ke dalam pembenihan *Simmons Citrat*, lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Warna biru menunjukkan hasil positif, warna hijau menunjukkan hasil negatif (Irianto, 2006).
- f) Penghitungan Bakteri *E. coli* dan *Coliform*
Hasil analisa metode MPN didapatkan dari mencocokkan dengan tabel MPN, yaitu tabel yang memberikan *The Most Probable Number* atau Jumlah Perkiraan Terdekat, yang tergantung

dari kombinasi tabung positif (yang mengandung bakteri *Coli*) dan negatif (yang tidak mengandung bakteri *Coli*) dari kedua tahap tes. Angka MPN tersebut mempunyai arti statistik dengan derajat kepercayaan (*level of signficancy*) 95 %.

- Apabila hasil tabung yang positif terdapat pada kombinasi tabung yang positif pada tabel MPN, maka jumlah bakteri *E. coli* dan *Coliform* dihitung menggunakan tabel MPN.
- Apabila hasil tabung yang positif tidak terdapat pada kombinasi tabung yang positif pada tabel MPN maka jumlah bakteri *E. coli* dan *Coliform* dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah Bakteri (JPT/100 ml)} = \frac{A \times 100}{\sqrt{B \times C}}$$

Keterangan :

A. = Jumlah tabung yang positif

B. = Volume (ml) sampel dalam tabung yang negatif

C. = Volume (ml) sampel dalam semua tabung

(Depkes RI, 1977).

Tabel I. *Most Probable Number* (MPN) Kuman Golongan *Coli*

Jumlah tabung yang positif			MPN Per-100 ml	95% batas <i>confidence</i>	
5 tabung 10 ml	1 tabung 1 ml	1 tabung 0.1 ml		Lebih rendah	Lebih tinggi
0	0	0	<2	0	5,9
0	1	0	2	0,050	13
1	0	0	2,2	0,050	13
1	1	0	4,4	0,52	14
2	0	0	5	0,54	19
2	1	0	7,6	1,5	19
3	0	0	8,8	1,6	29
3	1	0	12	3,1	30
4	0	0	15	3,3	46
4	0	1	20	5,9	48
4	1	0	21	6,0	53
5	0	0	38	6,4	330
5	0	1	96	12	370
5	1	0	240	12	3700
5	1	1	>240	-	-

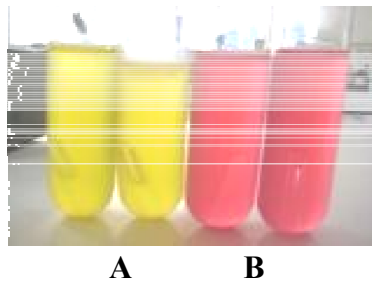
Cara Analisis

Analisis dilakukan dengan cara deskriptif yaitu menampilkan jumlah bakteri dan identifikasi bakteri *E. coli* yang terdapat pada sampel air minum yang diambil dari Depot Air Minum Isi Ulang yang ada di Kabupaten Rembang, kemudian dibandingkan dengan standar yang ditetapkan oleh Menkes RI Nomor 907/Menkes/SK/VII/2002.

Hasil dan Pembahasan

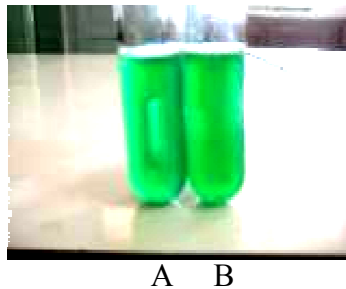
Penghitungan MPN Bakteri Golongan *Coli*

Tes perkiraan pada penelitian ini menggunakan media *Lactose Broth* (LB) karena LB merupakan media umum yang digunakan untuk mengisolasi kelompok bakteri *Coliform*. Uji dinyatakan positif bila terbentuk gas dalam tabung durham dan bersifat asam bila warna media menjadi kuning, seperti pada gambar 1 berikut ini :



Gambar 1. A. Hasil positif pada media LB (adanya gelembung gas)
B. Hasil negatif pada media LB (tidak terbentuk gelembung gas)

Tabung yang menunjukkan hasil positif diuji lebih lanjut dengan tes penegasan menggunakan media selektif *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB). Tabung dinyatakan positif bila di dalam tabung durham terbentuk gas, seperti pada gambar 2 berikut ini :



Gambar 2. A. Hasil positif pada media BGLB (adanya gelembung gas)
B. Hasil positif pada media BGLB (tidak terbentuk gelembung gas)

Tabung-tabung yang positif pada tes penegasan untuk bakteri *E. coli* dan *Coliform* dibandingkan dengan tabel MPN, sehingga didapat nilai MPN *E. coli* dan *Coliform* seperti pada tabel II berikut ini :

Tabel II. Nilai Rata-rata MPN *Coliform* dan *Fecal coli* pada air minum isi ulang dari DAMIU di Kabupaten Rembang.

Sampel	Nilai rata-rata MPN per-100 ml		Sampel	Nilai rata-rata MPN per-100 ml	
	<i>Coliform</i>	<i>E. coli</i>		<i>Coliform</i>	<i>E. coli</i>
1	<2	<2	14	<2	<2
2	<2	<2	15	<2	<2
3	<2	<2	16	<2	<2
4	<2	<2	17	<2	<2
5	<2	<2	18	<2	<2
6	<2	<2	19	<2	<2
7	<2	<2	20	<2	<2
8	<2	<2	21	<2	<2
9	<2	<2	22	<2	<2
10	<2	<2	23	<2	<2
11	<2	<2	24	<2	<2
12	21	13	25	<2	<2
13	<2	<2			

Dari hasil pemeriksaan bakteri *E. coli* dan *Coliform* yang telah dilakukan pada 25 sampel ternyata sebagian besar dari sampel yaitu 24 sampel (96%) air minum isi ulang didapatkan hasil negatif bakteri *E. coli*, hal ini dimungkinkan karena :

1. Kualitas air baku yang digunakan sudah baik karena mengambil sumber dari mata air pegunungan.
2. Letak depot air minum jauh dari saluran pembuangan.
3. Kondisi sanitasi dan kebersihan depot sudah diperhatikan.
4. Adanya pengawasan yang rutin dilakukan oleh Dinas Kesehatan setempat untuk memeriksa kelayakan produksi air minum isi ulang dari DAMIU.

Tetapi 1 sampel (4%) dari 25 sampel air minum isi ulang ada yang terkontaminasi *E. coli* , hal ini dapat disebabkan oleh berbagai macam faktor, antara lain :

1. Lamanya waktu penyimpanan air dalam tempat penampungan sehingga mempengaruhi kualitas sumber air baku yang digunakan.
2. Adanya kontaminasi selama memasukkan air ke dalam tangki pengangkutan.

3. Tempat penampungan kurang bersih.
4. Proses pengolahan yang kurang optimal.
5. Kebersihan lingkungan di sekitar DAMIU kurang diperhatikan.
6. Adanya kontaminasi dari galon yang tidak disterilisasi.

Pengujian biokimia bakteri *E. coli*

Hasil uji Biokimia bakteri *E. coli* dapat dilihat pada gambar 3 :



Gambar 3. Foto Hasil Uji Biokimia (IMVIC) bakteri *E. coli*

- | | |
|----------------|-----------|
| A. Indol | C. VP |
| B. Merah Metil | D. Sitrat |

Dari 25 sampel Air Minum Isi Ulang dari Depot Air Minum Isi Ulang yang terdapat di wilayah Kabupaten Rembang, diperoleh hasil bahwa sebagian besar tidak mengandung *Escherichia coli* yakni sebanyak 96% (24 sampel), akan tetapi 4% (1 sampel) dinyatakan positif terkontaminasi bakteri *E. coli*.

Daftar Pustaka

- Athena, Sukar, Hendro, M., Anwar, M.D., dan Haryono, 2003, *Kandungan Bakteri Total Coli dan Escherichia Coli/Fecal Coli pada air minum dari depot air minum isi ulang di Jakarta, Tangerang dan Bekasi*, Puslitbang Ekologi Kesehatan, <http://ekologi.litbang.depkes.go.id> diakses pada tanggal 27 Agustus 2008.
- Depkes RI, 1977, *Metode Pengambilan Contoh Air dan Pemeriksaan Bakteriologi Air*, Seri B-1, Laboratorium Kesehatan Daerah Semarang.
- Depkes RI, 2002, *Syarat-Syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum*, PerMenKes RI No. 907/MenKes/SK/VII/2002, DepKes RI, Jakarta.
- Irianto, K., 2006, *Menguak Dunia Mikroorganisme*, Jilid 2, hal 17-20, CV. Yrama Widya Margahayu Permai, Bandung.