

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Gambaran Lokasi Penelitian**

Penelitian ini telah dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Program studi Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kupang pada bulan Mei 2025 untuk mengetahui ada tidaknya cemaran bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang yang terdapat di Kelurahan Lasiana Kota Kupang. Penelitian dilakukan dengan melakukan penanaman sampel air pada beberapa media seperti media *Laktosa broth*, media *EMBA*, media Endo agar, uji biokimia serta pewarnaan gram. sampel digunakan dalam penelitian ini berjumlah 24 depot air minum isi ulang ang terdapat di Kelurahan Lasiana Kota Kupang.

#### **B. Hasil dan Pembahasan Penelitian**

##### **1. Identifikasi pada media laktosa broth**

Pada penelitian ini dilakukan dengan penanaman awal pada media laktosa broth, penggunaan media ini bertujuan untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri. Tabung yang sudah berisi media *laktosa broth* 10 ml dan tabung durham ditambahkan dengan sampel air minum sebanyak 1 ml lalu diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C.

Sampel yang telah diinkubasi diamati pada bagian tabung menghasilkan gas dan kekeruhan diduga mengandung bakteri golongan *coliform* dan bukan *coliform*. Hasil uji pada media *laktosa broth* terdapat pada tabel 4.1

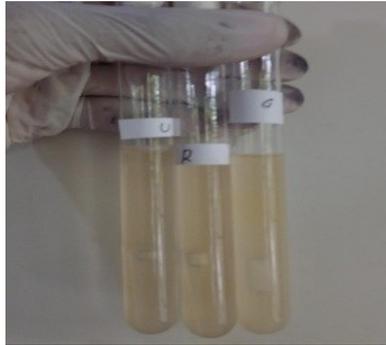
**Tabel 4.1 Hasil Identifikasi Air Minum isi Ulang di Kelurahan Lasiana Pada Media Laktosa Broth Tahun 2025.**

No	Sampel	Hasil
1	R	Positif
2	G	Positif
3	U	Positif

**Sumber : Data Primer**

Data pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa dari 24 sampel yang di uji, terdapat 3 sampel positif ditumbuhi bakteri yang ditandai dengan terdapat gelembung gas dan kekeruhan pada media laktosa broth dan 21 sampel tidak ditumbuhi oleh bakteri. Terdapat beberapa bakteri pathogen yang dapat memfermentasi laktosa antara lain: *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella* dan lain sebagainya.

Berdasarkan tabel 4.1 pengujian sampel air minum isi ulang yang ditanam pada media *laktosa broth* yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam terdapat 3 sampel positif yang ditandai dengan terdapatnya gelembung gas didalam tabung durham serta warna media yang berubah menjadi keruh. Hasil tersebut dapat dilihat pada gambar 6 berikut ini.



**Gambar 6. Sampel air minum yang terdapat gelembung gas**

Gelembung gas dan kekeruhan yang terjadi disebabkan karena bakteri yang terdapat dalam sampel air minum mampu memfermentasi laktosa pada media *laktosa broth*. Bakteri *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang dapat memfermentasi laktosa, selain *Escherichia coli* masih terdapat beberapa bakteri lain yang dapat memfermentasi seperti *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* dan *Enterococcus faecalis*. Untuk memastikan pertumbuhan yang terdapat pada media laktosa broth adalah bakteri *Escherichia coli*, maka sampel yang positif dilanjutkan penanaman pada media *EMBA* dan Endo agar.

## **2. Identifikasi Pada Media EMBA**

Media *EMBA* merupakan salah satu media yang digunakan untuk isolasi dan mengidentifikasi bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan lainnya. Penanaman pada media *EMBA* dilakukan dengan cara melakukan pengosesan secara zig-zag pada permukaan media *EMBA* dari seluruh sampel yang telah ditanami pada media laktosa broth baik yang terdapat gelembung gas dan kekeruhan maupun yang tidak terdapat sama

sekali, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37<sup>0</sup> C (Castro, 2019). Hasil penanaman pada media *EMBA* terdapat pada tabel 4.2 berikut ini.

**Tabel 4.2 Hasil Identifikasi Air Minum isi Ulang di Kelurahan Lasiana Pada Media *EMBA* Tahun 2025.**

Sampel	Hasil	Warna koloni
G	Positif	Koloni putih pucat
R	Positif	Koloni berwarna hijau metalik
U	Positif	Koloni pink pucat

Sumber : Data Primer

Data pada tabel 4.2 Menunjukkan bahwa sampel yang positif pada media Iaktosa broth yaitu pada media sampel G, R, dan U terdapat pertumbuhan koloni bakteri yang berbeda beda. Pada media sampel G terjadi pertumbuhan koloni bakteri berwarna putih pucat, pada media sampel R terjadi pertumbuhan koloni bakteri berwarna hijau metalik dan pada media sampel U terjadi pertumbuhan koloni bakteri berwarna pink pucat. Selain terjadi pertumbuhan pada media *EMBA* yang berasal dari media *laktosa broth* yang positif, pada beberapa media *EMBA* yang ditanami dengan media dari laktosa broth terjadi pertumbuhan koloni bakteri berwarna putih pucat dan merah muda. Berdasarkan data pada tabel 4.2, sampel R menunjukkan adanya koloni bakteri yang memiliki karakteristik khas *Escherichia coli*. Media *EMBA* mengandung eosin dan metilen biru yang berfungsi membedakan secara jelas antara koloni bakteri yang mampu memfermentasi laktosa dan yang tidak memfermentasi laktosa. Jika terdeteksi bakteri *Escherichia coli* positif, maka akan

terbentuk koloni berwarna hijau metalik, seperti yang tampak pada sampel R. Pertumbuhan koloni pada media sampel R memiliki ciri-ciri yang sama dengan bakteri *Escherichia coli*. Selain beberapa sampel yang terjadi pertumbuhan koloni pada media *EMBA*, terdapat juga beberapa sampel yang tidak mengalami pertumbuhan koloni bakteri, hal tersebut bisa terjadi karena bakteri yang menghasilkan gas pada media laktosa broth tidak dapat tumbuh pada media *EMBA* karena media tersebut tidak memiliki unsur-unsur yang dapat mendukung pertumbuhan dari bakteri tersebut. Pertumbuhan koloni pada media *EMBA* dapat dilihat pada gambar 7 berikut ini.



**Gambar 7. Pertumbuhan koloni pada sampel R**

### **3. Identifikasi Pada Media Endo agar**

Media Endo agar merupakan salah satu media yang digunakan untuk memastikan bakteri *Escherichia coli* yang dilakukan dengan suspensi bakteri bernilai positif kemudian digoreskan dengan ose secara zig-zag pada media Endo agar. Kemudian media Endo agar diinkubasi

selama 24 jam pada 37<sup>o</sup> C. Bakteri *Escherichia coli* akan menyebabkan perubahan warna pada media Endo agar menjadi warna merah muda atau pink (Indrayati dkk., 2018). Hasil penanaman pada media Endo agar terdapat pada tabel 4.3 berikut ini.

**Tabel 4.3 Hasil Identifikasi Air Minum isi Ulang di Kelurahan Lasiana Pada Media Endo agar Tahun 2025.**

Sampe l	Hasil	Warna koloni
G	Positif	Koloni merah muda pucat
R	Positif	Koloni berwarna pink
U	Positif	Koloni putih pucat

Sumber : Data Primer

Data pada tabel 4.3 Menunjukkan bahwa sampel R terdapat pertumbuhan koloni kecil berwarna merah muda, smooth yang merupakan ciri ciri dari bakteri *Escherichia coli*, sedangkan pada sampel C, G, H, J, terdapat pertumbuhan koloni kecil berwarna merah muda pucat, smooth dan pada sampel O, P, T, U terdapat pertumbuhan koloni kecil berwarna putih pucat, smooth. Prinsip Endo Agar didasarkan pada beberapa komponen memungkinkan diferensiasi selektif bakteri berdasarkan kemampuan fermentasi laktosanya. Endo Agar adalah media yang sangat efektif untuk mengisolasi bakteri gram negatif sambil membedakan mereka berdasarkan kemampuan mereka untuk memfermentasi laktosa. Media ini juga memungkinkan identifikasi cepat bakteri laktosa-fermenter

dengan menggunakan indikator warna dan kemilau metalik yang dihasilkan oleh interaksi kimia dalam media. Jika terdapat *Escherichia coli* pada sampel air minum maka akan terjadi pertumbuhan koloni bakteri berwarna merah muda atau merah metalik. Pertumbuhan koloni pada media Endo agar dapat dilihat pada gambar 8.



**Gambar 8. Pertumbuhan koloni pada sampel R**

#### **4. Pewarnaan Gram**

Pewarnaan gram merupakan salah metode uji yang digunakan dalam mengidentifikasi bakteri gram negatif salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada tabel 4.4 berikut ini.

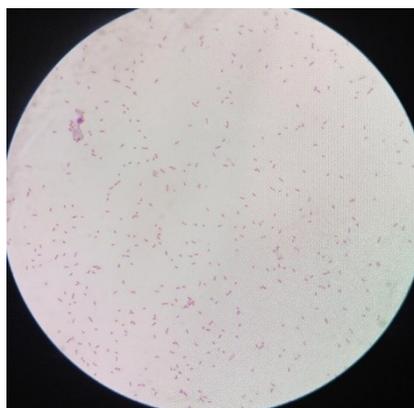
**Tabel 4.4 Hasil Identifikasi Air Minum isi Ulang di Kelurahan Lasiana Pada Pewarnaan Gram Tahun 2025.**

<b>Kode Sampel</b>	<b>Hasil Pewarnaan Gram</b>
G	Batang pendek, berwarna merah, berspora, gram negatif
R	Batang pendek, berwarna merah, tidak berspora, gram negatif
U	Batang panjang, berwarna merah, tidak berspora, gram negatif

**Sumber : Data Primer**

Data pada tabel 4.4 Menunjukkan bahwa terdapat beberapa sampel yang memiliki ciri-ciri morfologi seperti bakteri *Escherichia coli* yaitu memiliki bentuk batang pendek, berwarna merah dan tidak memiliki spora. Sampel yang memiliki ciri-ciri sama dengan *Escherichia coli* adalah sampel K, L, O, P, R, X. Sedangkan sampel C dan G memiliki ciri-ciri yang sama namun memiliki spora. Sampel Q dan T memiliki bentuk coccus berwarna biru dan sampel U memiliki bentuk Panjang berwarna merah dan tidak berspora.

Pewarnaan gram dilakukan untuk membedakan antara bakteri gram positif dan negatif. Selain itu, metode ini membantu mempermudah pengamatan bakteri dibawah mikroskop, memperjelas ukuran dan morfologinya, mengidentifikasi struktur internal seperti dinding sel dan vakuola, serta menunjukkan sifat fisik dan kimia khas bakteri melalui reaksi terhadap pewarna. Dalam proses pewarnaan, bakteri gram positif akan tampak ungu, sedangkan gram negatif, berwarna merah muda, berbentuk batang pendek atau kecil, dan tersusun Tunggal. Warna merah ini muncul karena bakteri gram negatif tidak mampu mempertahankan kristal violet akibat lapisan peptidoglikannya yang tipis. Hasil mikroskopik dari pewarnaan gram dapat dilihat pada gambar 9.



**Gambar 9. Hasil Mikroskopik**

## 5. Uji Biokimia

Uji biokimia merupakan uji yang dilakukan pada sampel yang terdapat pertumbuhan koloni pada media *EMBA* dan Endo agar yang bertujuan mendukung hasil yang diperoleh dari pewarnaan gram. Uji biokimia dilakukan untuk melihat sifat sifat biokimia dari sampel yang terdapat pertumbuhan pada media *EMBA* dan Endo agar. Hasil uji biokimia terdapat pada tabel 4.5 berikut ini.

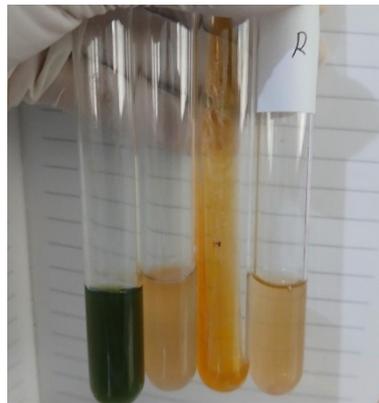
**Tabel 4.5 Hasil Identifikasi Sampel air Minum Isi ulang di Kelurahan Lasiana Pada Uji Biokimia Tahun 2025.**

Kode Sampel	Uji Biokimia							Interpetasi Hasil
	Sulfur	Indol	Motility	MR	VP	SC	TSIA	
<b>G</b>	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	A/K, (+g), H <sub>2</sub> S (-)	Negatif
<b>R</b>	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	A/A, (+g), H <sub>2</sub> S (-)	Negatif
<b>U</b>	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	K/K, (-g), H <sub>2</sub> S	Negatif

								(-)	
--	--	--	--	--	--	--	--	-----	--

Sumber : Data Primer

Data pada tabel 4.5 menunjukkan bahwa tidak terdapat sampel yang memiliki ciri-ciri positif *Escherichia coli*. Contoh hasil *Escherichia coli* yang positif yaitu (-) Sulfur, (+) Indol, (+) Motil, (+) MR, (-) VP, (-) Sitrat dan TSIA (A/A, (+g), H<sub>2</sub>S (-). Hasil uji biokimia pada sampel R dapat dilihat pada gambar 10.



**Gambar 10. Hasil uji biokimia sampel R**

Uji biokimia merupakan salah satu langkah penting dalam proses identifikasi bakteri. Melalui uji ini, dapat diketahui aktivitas metabolisme mikroorganisme. Karakter metabolisme bakteri diamati berdasarkan interaksi antara metabolit yang dihasilkan dengan reagen kimia, serta kemampuannya memanfaatkan senyawa tertentu sebagai sumber energi dan karbon. Media biokimia yang digunakan meliputi IMVIC(indol, MR,

VP, SC), SIM, TSIA, serta berbagai media karbohidrat atau gula-gula. (Ramadan, dkk .,2024).

Pada penelitian ini dilakukan uji biokimia pada semua sampel yang terjadi pertumbuhan koloni pada media *EMBA* dan Endo agar. Berdasarkan data yang didapat pada tabel 4.5 Menunjukkan terdapat beberapa sampel yang memiliki interpretasi biokimia yang sama, namun ada juga yang berbeda. Data pada tabel 4.5 juga menunjukkan bahwa tidak terdapat sampel yang memiliki ciri-ciri positif *Escherichia coli*. Contoh hasil *Escherichia coli* yang positif yaitu (-) Sulfur, (+) Indol, (+) Motil, (+) MR, (-) VP, (-) Sitrat dan (A/A, (+g), H<sub>2</sub>S (-) TSIA.

Beberapa isolate menunjukkan karakteristik yang menyerupai bakteri lain seperti *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, dan *Proteus*. Bakteri-bakteri yang ditemukan pada penelitian ini merupakan bakteri gram negatif yang dapat tumbuh pada media-media yang digunakan. Keberadaan bakteri-bakteri pada sampel air minum isi ulang harus menjadi perhatian khusus karena dapat menyebabkan masalah Kesehatan bagi konsumen air minum isi ulang di Kelurahan Lasiana Kota Kupang. Meskipun *Escherichia coli* tidak ditemukan dalam penelitian ini, keberadaan bakteri lain seperti bakteri gram negatif batang berspora dan non-spora, menunjukkan adanya kemungkinan kontaminasi mikrobiologis dalam air minum isi ulang. Beberapa factor yang dapat menyebabkan keberadaan bakteri lain yaitu seperti kebersihan dan sanitasi peralatan pengisian yang kurang baik, kebersihan alat pembersih

pada depot air minum isi ulang yang buruk, lingkungan depot yang tidak higienis, proses filtrasi dan sterilisasi yang tidak efektif, sumber air baku yang sudah terkontaminasi dan kontaminasi pada pengambilan sampel maupun saat melakukan penelitian.

Menurut penelitian Rubian (2022), Pencemaran air minum isi ulang hasil olahan oleh depot air minum isi ulang tidak hanya dipengaruhi oleh kualitas peralatan yang digunakan pada proses pengolahan air tetapi juga dipengaruhi oleh tenaga produsen pengolahan air tersebut. Bersih atau tidaknya seorang produsen air minum sangat berpengaruh terhadap kualitas bakteriologis air minum yang diproses atau diolah oleh depot air minum isi ulang.

### **C. Standar Kelayakan Air Minum Isi Ulang di Kelurahan Lasiana Kota Kupang.**

Pada penelitian cemaran bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang di kelurahan lasiana kota kupang didapati hasil negatif pada seluruh sampel air minum isi ulang yang telah dilakukan. Hal tersebut berdasarkan hasil penelitian yang terdapat pada tabel 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, dan 4.5 yang tidak terdapat ciri-ciri yang mengarah pada bakteri *Escherichia coli*. Maka dari itu seluruh depot air minum isi ulang yang terdapat di Kelurahan Lasiana Kota Kupang layak untuk dikonsumsi oleh Masyarakat sekitar, hal tersebut berdasarkan pada Permenkes Nomor 2 Tahun 2023 tentang peraturan pelaksanaan pemerintah Nomor 66 Tahun 2014 tentang kesehatan lingkungan.

Peraturan ini menetapkan syarat-syarat yang harus dipenuhi oleh air agar tidak membahayakan kesehatan manusia.

*Escherichia coli* merupakan jenis bakteri indikator yang digunakan untuk mendeteksi adanya pencemaran feses di lingkungan. Bakteri ini bisa menjadi patogen jika populasinya meningkat dalam saluran pencernaan manusia atau berkembang di luar usus. Hal tersebut disebabkan oleh kemampuannya menghasilkan enterotoksin, yaitu racun yang dapat memicu berbagai gangguan kesehatan seperti diare dan gastroenteritis (Widyaningrum & Resi, 2023).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Purba, dkk., (2023), terdapat beberapa faktor yang menyebabkan hasil identifikasi bakteri *Escherichia coli* menunjukkan hasil negatif, antara lain kualitas air baku yang baik, kebersihan dan higienitas saat penanganan, serta kondisi peralatan pengolahan yang berfungsi dengan optimal. Salah satu faktor yang turut berkontribusi terhadap potensi kontaminasi air minum isi ulang adalah kebersihan pribadi (personal hygiene) petugas di depot air minum. Masih ditemukan petugas yang tidak mencuci tangan menggunakan sabun sebelum melakukan proses pengisian air ke dalam galon, bahkan ada yang belum pernah mengikuti pelatihan terkait pelayanan konsumen. Rendahnya kesadaran petugas akan pentingnya menjaga kebersihan diri menjadi penyebab utama kondisi ini, yang pada akhirnya dapat menurunkan kualitas air secara bakteriologis dan membahayakan kesehatan konsumen.

Reverse Osmosis (RO) merupakan teknologi pengolahan air yang sering diterapkan dalam proses pembuatan air minum isi ulang. Teknologi ini menawarkan sejumlah kelebihan, seperti tidak mengubah bentuk fisik zat yang dipisahkan, beroperasi pada suhu rendah, tidak memerlukan bahan kimia tambahan, serta hemat energi. Proses RO dilakukan dengan memberikan tekanan tinggi pada air melebihi tekanan osmotik, sehingga air dapat melewati membran semi-permeabel. Membran ini berfungsi menyaring partikel besar, garam, dan berbagai zat pencemar, sehingga hanya molekul air dan partikel berukuran kecil yang bisa lolos. Sistem RO biasanya menggunakan serat berongga yang disusun spiral berguna memperluas area penyaringan. Air yang telah tersaring kemudian diproses lebih lanjut untuk dikemas menjadi air minum isi ulang. Penggunaan teknologi RO terbukti efektif dalam meningkatkan mutu air karena mampu menghilangkan berbagai jenis kontaminan, baik mikroorganisme maupun zat kimia. Oleh sebab itu, penerapan sistem RO secara tepat dan sesuai standar sangat penting untuk menjamin air minum yang aman dan higienis bagi masyarakat.

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan didapati hasil negatif dari cemaran bakteri *Escherichia coli*, meskipun tidak ditemukan cemaran bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang ditemukan bakteri *Klebsilla spp.*, *Enterobacter spp.*, dan *Proteus*. Bakteri-bakteri tersebut dalam bakteri gram negatif yang menyebabkan terjadi pertumbuhan pada media laktosa broth, *EMBA* dan Endo agar. Kontaminasi oleh bakteri-bakteri tersebut dapat menyebabkan masalah serius bagi Kesehatan manusia. Bakteri *Klebsiella spp.*

Dapat menyebabkan sepsis, infeksi saluran kemih, abses hati dan infeksi luka serta jaringan lunak. Bakteri *Enterobacter spp.* Dapat menyebabkan pneumonia nosokomial, infeksi saluran kemih dan infeksi saluran darah. Bakteri *proteus* dapat menyebabkan infeksi saluran kemih, batu ginjal dan sepsis.