

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

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

Pada penelitian ini dilakukan pemeriksaan sampel air minum isi ulang untuk mengetahui ada tidaknya cemaran bakteri *E. coli* pada air minum isi ulang di Kelurahan Penkase Oeleta Kota Kupang. Terdapat 35 depot air minum isi ulang yang tersebar di Kelurahan Penkase Oeleta. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 26 sampel yang ditentukan menggunakan teknik *simple random sampling*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Prodi D-III Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Kupang.

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

1. Identifikasi cemaran bakteri *E. coli* pada air minum isi ulang di Kelurahan Penkase Oeleta Kota Kupang

- a. Media *Lactose Broth*

Media LB digunakan untuk mengetahui ada tidaknya kehadiran bakteri *coliform*. Pada penelitian ini sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sebelumnya sudah berisi tabung durham dan 10 ml media LB kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37° C. Tabung yang menghasilkan gas dan kekeruhan dalam masa inkubasi diduga mengandung bakteri

*coliform*. Apabila sampel diduga mengandung bakteri *coliform* maka dapat dilanjutkan dengan media selektif yaitu media EMBA dan Endo. Hasil pertumbuhan bakteri pada media LB seperti tertera pada tabel 4.1 berikut ini.

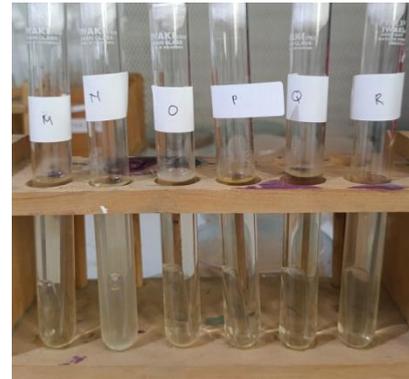
**Tabel 4.1 Hasil Cemaran Bakteri *E. coli* Pada Air Minum Isi Ulang Di Kelurahan Penkase Oeleta Kota Kupang Tahun 2025 Menggunakan Media LB**

No	Kode Sampel	Lactosa Broth	No	Kode Sampel	Lactosa Broth
1	A	Negatif	14	N	Keruh dan Gas
2	B	Negatif	15	O	Negatif
3	C	Negatif	16	P	Negatif
4	D	Negatif	17	Q	Negatif
5	E	Negatif	18	R	Negatif
6	F	Negatif	19	S	Keruh
7	G	Negatif	20	T	Keruh
8	H	Negatif	21	U	Keruh
9	I	Keruh	22	V	Keruh
10	J	Negatif	23	W	Negatif
11	K	Negatif	24	X	Negatif
12	L	Negatif	25	Y	Negatif
13	M	Negatif	26	Z	Negatif

Data pada tabel 4.1 menunjukkan bahwa dari 26 sampel yang diuji, 1 sampel positif keruh memiliki gas, 5 sampel keruh tanpa gas dan 20 sampel lainnya jernih tidak ditumbuhi bakteri.



Gambar 13. Media LB Sebelum Inkubasi



Gambar 14. Media LB Setelah Inkubasi

Identifikasi cemaran bakteri *E. Coli* pada air minum isi ulang di Kelurahan Penkase Oeleta Kota Kupang dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu penanaman sampel pada media LB, inokulasi pada media EMBA dan endo, pewarnaan gram, pengamatan morfologi bakteri menggunakan mikroskop serta uji biokimia. Media *Lactose Broth* (LB) merupakan media untuk melihat ada tidaknya bakteri *coliform* pada suatu sampel berdasarkan terbentuknya asam dan gas yang disebabkan karena fermentasi laktosa oleh bakteri kelompok *coliform* (Habibah, 2016). Hasil positif ditunjukkan berdasarkan kekeruhan dan terbentuknya gelembung pada tabung durham. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa 4% sampel positif LB keruh memiliki gas (sampel N), 19% sampel keruh tanpa gas (sampel I, S, T, U dan V) dan 77% sampel jernih tidak ditumbuhi

bakteri (sampel A, B, C, D, E, F, G, H, J, K, L, M, O, P, Q, R, W, X, Y, dan Z). Kekeruhan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri, sedangkan pembentukan gas menunjukkan adanya aktifitas fermentasi laktosa oleh bakteri. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sari, didapatkan hasil uji *coliform* fekal dengan media *Escherichia coli Broth* dan *Lactose Broth* terdapat dua sampel yang positif yaitu damiu 2 dan damiu 11, maka hanya 2 sampel tersebut yang dilanjutkan pada uji penegasan bakteri *Escherichia coli* dengan media *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA) (R. P. Sari, 2016).

b. Media Endo

Hasil inkubasi positif pada media LB kemudian ditanamkan secara aseptis dengan menggunakan jarum inokulasi pada media Endo kemudian diinkuasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Koloni bakteri *E. coli* pada media endo tumbuh berwarna merah atau merah muda dengan kilau logam.



Gambar 15. Koloni Bakteri *E. coli* Pada Media Endo

Hasil pertumbuhan bakteri kode sampel N pada media Endo seperti tertera pada gambar dibawah ini.



Gambar 16. Koloni Bakteri Kode Sampel N Pada Media Endo

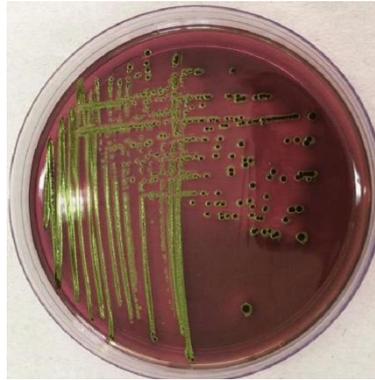
Gambar diatas menunjukkan bahwa sampel N yang diinokulasikan pada media Endo membentuk koloni berwarna putih sedangkan sampel lainnya menunjukkan hasil 3 sampel yang tidak tumbuh dan 22 sampel tumbuh koloni yang terdiri dari 17 sampel koloni berwarna merah muda, dan 5 sampel koloni berwarna putih. Hal ini menunjukkan tidak ada koloni bakteri yang menunjukkan kemiripan dengan koloni bakteri *E. coli* pada media Endo.

Inokulasi pada media Endo bertujuan untuk mendeteksi keberadaan bakteri coliform fekal dan mikroorganisme lainnya (R. Sari & Apridamayanti, 2014). Hasil penelitian menunjukkan 11% sampel tidak tumbuh pada media Endo dan 89% sampel tumbuh pada media Endo dengan rincian 74% sampel memiliki koloni berwarna merah muda dan 26% sampel memiliki koloni berwarna putih. Selektivitas media Endo agar tersusun atas sodium sulfat atau kombinasi basic fuchsin, yang menghasilkan suspensi

mikroorganisme Gram negatif. Bakteri *coliform* memfermentasi laktosa, menghasilkan koloni berwarna merah muda hingga warna merah seperti bunga mawar serta berbagai pewarnaan yang mirip. Berdasarkan hasil uji, semua sampel positif mengandung bakteri *coliform E.coli*, ditunjukkan dengan terbentuknya koloni warna merah dengan kilap logam pada media uji (R. Sari & Apridamayanti, 2014). Penelitian ini menunjukkan tidak ada bakteri yang memfermantasi laktosa dengan terbentuknya koloni yang tidak berwarna merah akan tetapi berwarna merah muda dan putih. Koloni yang terbentuk kemudian dilakukan pewarnaan Gram dan pengamatan mikroskopik.

c. Media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA)

Hasil inkubasi pada media LB kemudian ditanamkan secara aseptis dengan menggunakan jarum inokulasi pada media EMBA kemudian diinkuasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Koloni bakteri *E. coli* pada media EMBA tumbuh berwarna hijau metalik dengan kilat logam.



Gambar 17. Koloni Bakteri *E. coli* Pada Media EMBA

Hasil pertumbuhan bakteri pada media EMBA seperti tertera pada gambar dibawah ini.



Gambar 18. Koloni Bakteri Kode Sampel N Pada Media EMBA

Gambar diatas menunjukkan bahwa sampel N yang diinokulasikan pada media EMBA memiliki koloni berwarna hijau metalik yang menunjukkan kemiripan dengan koloni bakteri *E. coli* pada media EMBA, sedangkan sampel lainnya tidak menunjukkan kemiripan bentuk koloni dengan koloni bakteri *E. coli* pada media EMBA yang terdiri dari 3 sampel yang tidak tumbuh dan 22 sampel tumbuh koloni yang terdiri dari 16 sampel koloni berwarna merah

muda, 4 sampel koloni berwarna putih, dan 2 sampel koloni berwarna hitam eosin.

Inokulasi pada media EMBA bertujuan sebagai media selektif terhadap pertumbuhan bakteri yang mana menjadi media khusus untuk pertumbuhan bakteri gram negatif (Sudiana & Sudirgayasa, 2020). Hasil penelitian menunjukkan 11% sampel tidak tumbuh pada media EMBA dan 89% sampel tumbuh pada media EMBA dengan rincian 70% sampel memiliki koloni berwarna merah muda, 17% sampel memiliki koloni berwarna putih, 9% sampel koloni berwarna hitam eosin dan 4% sampel koloni berwarna hijau metalik. Hasil positif ditandai dengan adanya warna hitam kehijauan metalik pada pusat koloni di goresan media EMBA (Nisa, 2022). Menurut Brooks dkk (2013) dalam (Nisa, 2022) bahwa media EMBA mengandung sejumlah laktosa sehingga dapat membedakan golongan bakteri dengan proses fermentasi laktosa, bakteri yang mampu memfermentasi laktosa salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Koloni yang terbentuk kemudian dilakukan pewarnaan Gram dan pengamatan mikroskopik.

#### d. Pewarnaan Gram

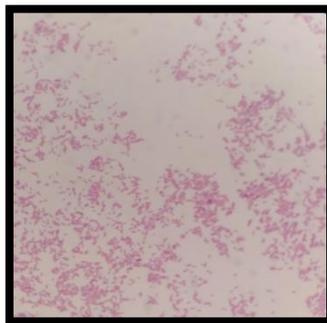
Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui bakteri yang tumbuh pada media EMBA dan endo tergolong bakteri Gram negatif ataupun Gram positif. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara mengambil koloni bakteri dari media EMBA maupun endo lalu

dibuat sediaan, pewarnaan dan dilakukan pengamatan secara mikroskopis.

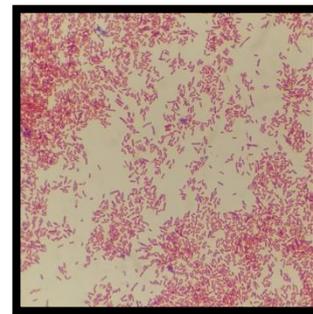


Gambar 19. Bakteri *E. coli* Pada Pewarnaan Gram

Hasil dari pewarnaan Gram pada media Endo dan EMBA seperti tertera pada gambar dibawah ini.



Gambar 20. Pewarnaan Gram Bakteri Kode Sampel N Pada Media Endo



Gambar 21. Pewarnaan Gram Bakteri Kode Sampel N Pada Media EMBA

Gambar diatas menunjukkan bahwa sampel N menunjukkan hasil Gram negatif yang merupakan ciri-ciri bakteri *E. coli* pada pewarnaan Gram, sedangkan sampel lainnya diperoleh 22 sampel bakteri Gram negatif dan 3 sampel Gram positif yang terdiri dari 2 sampel Gram positif pada media Endo dan 1 sampel pada media EMBA. Pada media Endo, presentase bakteri Gram positif dan negatif seperti tertera pada tabel 4.2 berikut ini

**Tabel 4.2 Presentase Bakteri Gram Positif dan Negatif Pada Media Endo**

<b>Gram</b>	<b>Jumlah Sampel</b>	<b>Presentase</b>
Positif	2	8%
Negatif	21	80%
Tidak Tumbuh	3	12%

Data dari tabel 2 menunjukkan bahwa dari 26 sampel yang diinokulasikan pada media Endo dan dilakukan pewarnaan Gram terdapat presentase 80% tergolong bakteri Gram negatif, 8% tergolong bakteri Gram positif dan 12% lainnya tidak tumbuh pada media Endo. Pada media EMBA, presentase bakteri Gram positif dan negatif seperti tertera pada tabel 3 berikut ini.

**Tabel 4.3 Presentase Bakteri Gram Positif dan Negatif Pada Media EMBA**

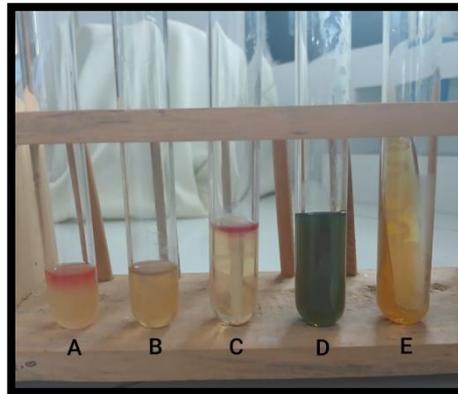
<b>Gram</b>	<b>Jumlah Sampel</b>	<b>Presentase</b>
Positif	1	4%
Negatif	22	85%
Tidak Tumbuh	3	11%

Data dari tabel 3 menunjukkan bahwa dari 26 sampel yang diinokulasikan pada media EMBA dan dilakukan pewarnaan Gram terdapat presentase 85% tergolong bakteri Gram negatif, 4% tergolong bakteri Gram positif dan 11% lainnya tidak tumbuh pada

media EMBA. Pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui bakteri yang tumbuh pada media EMBA maupun Endo agar merupakan bakteri gram negatif yang merupakan ciri dari bakteri *E. coli*.

e. Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan pada sampel yang menunjukkan hasil Gram negatif pada pewarnaan gram. Uji ini dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi (Rifai, 2021). Uji biokimia dilakukan dengan melakukan inokulasi koloni bakteri secara aseptis dari media EMBA dan endo ke dalam tabung uji biokimia.



Gambar 22. Uji Biokimia Bakteri *E. coli* A: MR (+) B: VP (-)  
C: SIM (Sulfur: (-) Indol: (+) Motility: (+)) D: Simmon Citrate (-)  
E: TSIA: A/A Gas (+) H<sub>2</sub>S (-)

Hasil uji biokimia kode sampel N seperti tertera pada tabel 4 berikut ini.

**Tabel 4.4 Hasil Uji Biokimia Cemaran Bakteri *E. coli* Pada Air Minum Isi Ulang Di Kelurahan Penkase Oeleta Kota Kupang Tahun 2025**

Uji Biokimia	Hasil
 Media SIM	Sulfur: (-) Indol: (+) Motility: (+)
 Media MR	(+)
 Media VP	(-)
 Media Simmon Citrate	(+)
 Media TSIA	A/K Gas (-) H <sub>2</sub> S (-)

Data pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa sampel N tidak menunjukkan sifat-sifat kimia dari bakteri *E. coli*, sedangkan sampel lainnya juga menunjukkan hal yang serupa yaitu tidak menunjukkan sifat-sifat kimia dari bakteri *E. coli*.

Uji biokimia merupakan salah satu metode identifikasi bakteri yang umum dilakukan. Uji ini bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi (Rifai, 2021). Uji indol bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memecah asam amino triptofan. Produksi indol dalam media dimungkinkan karena adanya triptofan, yang merupakan asam amino esensial yang dapat dioksidasi melalui aktivitas enzimatik beberapa bakteri. Hasil uji Indol ditandai dengan terbentuknya lapisan (cincin) berwarna merah ceri pada permukaan biakan setelah penambahan reagen *Kovach*, yang menunjukkan bahwa bakteri ini membentuk indol dari triptofan sebagai sumber karbon (Cappuccino & Welsh, 2018). Bakteri *E. coli* dapat memproduksi Indol dari pemecahan asam amino triptofan dengan menggunakan enzim *Tryptophanase* (R. Sari & Apridamayanti, 2014). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa uji Indol pada sampel N adalah positif, yang ditunjukkan dengan adanya warna merah ceri setelah penambahan reagen *Kovach*.

Media uji motilitas digunakan untuk menentukan motilitas suatu mikroorganisme. Hasil pengamatan uji motilitas *E. coli* adalah positif, yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar area penusukan. Hasil pengamatan pada media sampel N juga menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri di sekitar area penusukan.

Uji *Methyl Red* (MR) bertujuan untuk mendeteksi kemampuan organisme dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa (S. A. Rahayu & Gumilar, 2017). Beberapa bakteri menghasilkan sejumlah besar asam dari fermentasi. Hasil pengamatan untuk uji MR pada isolat bakteri *E. coli* adalah positif, yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah (S. A. Rahayu & Gumilar, 2017). Hasil pengamatan pada media MR untuk bakteri *E. coli* adalah positif, yang ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah setelah penambahan reagen *Methyl Red*. Hasil pengamatan pada sampel N menunjukkan hal yang serupa, yaitu terbentuknya warna merah setelah penambahan reagen *Methyl Red*.

Uji *Voges-Proskauer* (VP) adalah tes yang digunakan untuk mendeteksi *acetoin* dalam kultur cair bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan *alpha-naphthol* dan kalium hidroksida ke dalam kaldu *Voges-Proskauer* yang telah diinokulasi dengan bakteri (Nisa, 2022). Warna merah ceri menunjukkan hasil positif, sedangkan warna kuning coklat menunjukkan hasil negatif. Tes ini

bergantung pada pencernaan glukosa menjadi *acetylmethylcarbinol*. Uji ini negatif untuk *E. coli* karena *E. coli* memfermentasikan karbohidrat menjadi produk asam dan tidak menghasilkan produk netral seperti *acetoin* (S. A. Rahayu & Gumilar, 2017). Hasil pengamatan untuk uji VP adalah negatif, yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna pada larutan VP. Sampel N menunjukkan hasil negatif, yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna setelah penambahan reagen *alpha-naphthol* dan kalium hidroksida.

Menurut Sunarjo (1994) dalam (S. A. Rahayu & Gumilar, 2017), uji *Simmons citrate* bertujuan untuk mendeteksi kemampuan suatu organisme dalam memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Jika organisme mampu menggunakan sitrat, maka pH akan meningkat dan mengubah warna medium biakan dari hijau menjadi biru. *E. coli* merupakan salah satu bakteri yang tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbon di lingkungan. Hasil pengamatan untuk uji sitrat pada *E. coli* adalah negatif, yang ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna pada media uji sitrat (S. A. Rahayu & Gumilar, 2017). Sampel N menunjukkan hasil positif pada uji sitrat, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru setelah inkubasi selama  $1 \times 24$  jam.

Uji *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dirancang untuk membedakan berbagai kelompok atau genus *Enterobacteriaceae*,

yang merupakan basil Gram negatif yang mampu memfermentasi glukosa dengan produksi asam, serta untuk membedakan *Enterobacteriaceae* dari basil Gram negatif usus lainnya. Perbedaan dibuat berdasarkan pola fermentasi karbohidrat dan produksi hidrogen sulfida oleh berbagai kelompok organisme usus (Cappuccino & Welsh, 2018). Hasil pengamatan pada uji TSIA bakteri *E. coli* adalah A/A, gas positif, dan H<sub>2</sub>S negatif. Sampel N menunjukkan hasil A/K dengan gas dan H<sub>2</sub>S negatif pada uji TSIA.

Hasil uji biokimia dalam penelitian ini tidak menunjukkan keasaman sifat fisiologis dengan bakteri *E. coli*, sehingga dari 26 sampel yang diuji, seluruh sampel tidak terkontaminasi oleh bakteri *E. coli*. Hasil pengamatan mikroskopis dan uji biokimia menunjukkan adanya beberapa spesies lain seperti bakteri *Shigella*, *Pseudomonas*, dan *Proteus*. Menurut Sari (2016), hasil penelitian terhadap air minum isi ulang yang dijual di wilayah Sungai Besar Kota Banjarbaru menunjukkan bahwa dari 13 sampel yang diteliti, sebanyak 2 sampel (15,38%) memberikan hasil positif mengandung bakteri *E. coli*, sedangkan 11 sampel (85,62%) memberikan hasil negatif tidak mengandung bakteri *E. coli* (R. P. Sari, 2016).

## 2. Nilai Standar Kelayakan Air Minum Isi Ulang Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 2 Tahun 2023

Standar kelayakan air minum isi ulang ditentukan dengan membandingkan hasil cemaran bakteri *E. coli* dengan Peraturan Menteri

Kesehatan Nomor 2 Tahun 2023 yaitu 0 CFU/100 ml (Kementerian Kesehatan, 2023). Nilai standar kelayakan air minum isi ulang tertera pada tabel berikut ini.

**Tabel 4.8 Nilai Standar Kelayakan Air Minum Isi Ulang Di Kelurahan Penkase Oeleta Kota Kupang Tahun 2025**

Kode Sampel	Hasil Bakteri <i>E. coli</i>	Nilai Standar Kelayakan	Kode Sampel	Hasil Bakteri <i>E. coli</i>	Nilai Standar Kelayakan
A	Negatif	Layak	N	Negatif	Layak
B	Negatif	Layak	O	Negatif	Layak
C	Negatif	Layak	P	Negatif	Layak
D	Negatif	Layak	Q	Negatif	Layak
E	Negatif	Layak	R	Negatif	Layak
F	Negatif	Layak	S	Negatif	Layak
G	Negatif	Layak	T	Negatif	Layak
H	Negatif	Layak	U	Negatif	Layak
I	Negatif	Layak	V	Negatif	Layak
J	Negatif	Layak	W	Negatif	Layak
K	Negatif	Layak	X	Negatif	Layak
L	Negatif	Layak	Y	Negatif	Layak
M	Negatif	Layak	Z	Negatif	Layak

Data dari tabel 4.8 menunjukkan bahwa dari 26 sampel air minum isi ulang di Kelurahan Penkase Oeleta didapati keseluruhan sampel layak karena tidak terdapat cemaran bakteri *E. coli*.

Standar kelayakan air minum isi ulang ditentukan dengan membandingkan hasil penelitian dengan Peraturan Menteri Kesehatan

Nomor 2 Tahun 2023. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 2 Tahun 2023, batasan maksimum cemaran bakteri *E. coli* pada air minum adalah 0 CFU/100 ml (Kementerian Kesehatan, 2023). Hasil penelitian menunjukkan seluruh sampel air minum isi ulang didapatkan hasil negatif *E. coli* sehingga keseluruhan sampel air minum isi ulang tersebut layak untuk diminum. Air minum isi ulang di Kelurahan Penkase Oeleta sudah aman dari bakteri *E. coli*, namun penting untuk memperhatikan keberadaan bakteri lainnya.

Menurut Agustina, faktor yang mungkin menyebabkan hasil positif dari uji praduga MPN ini adalah terjadinya kontaminasi air minum isi ulang pada proses pengolahannya antara lain penampungan air baku, desinfeksi maupun penyaringan pada depot yang kurang maksimal (Agustina, 2021). Pengolahan air minum perlu memperhatikan higienitas pekerja maupun lingkungan kerja, air baku, serta penanganan terhadap wadah pembeli. Menurut Sari (2016), terdapat beberapa faktor yang menyebabkan air minum tersebut tidak memenuhi persyaratan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010. Faktor-faktor tersebut meliputi adanya kontaminasi pada peralatan pengolahan air minum, ketidakefektifan dalam sistem desinfeksi atau sterilisasi, kurangnya pengetahuan pemilik depot mengenai higienitas, sanitasi tempat pengolahan air minum yang belum memadai, serta sistem distribusi pada pipa penyalur air minum yang tidak memenuhi standar. Selain itu, kebersihan filter juga perlu diperhatikan, seperti mengganti

filter setiap 5 bulan, serta memperhatikan temperatur penyimpanan sampel air minum yang dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri (R. P. Sari, 2016). Kehadiran bakteri *coliform* dalam air minum isi ulang menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi serta adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik, yang dapat mengganggu kesehatan (Agustina, 2021).