

**ANALISIS CEMARAN BAKTERI *ESCHERICHIA COLI*, *SALMONELLA*
PADA DEPOT AMIU KELURAHAN CEMANI
KABUPATEN SUKOHARJO**

¹ Tatiana Siska Wardani *², Rita Anita Tanikolan *

¹Pharmacy Departemen Faculty Of health science Duta Bangsa University Surakarta, Indonesia

²Pharmacy Departemen Faculty Of health science Duta Bangsa University Surakarta, Indonesia

Email : Tatiana_siska@udb.ac.id¹ ; ritaanita@tanikolan@gmail.com²

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui mutu air minum isi ulang yang dijual di wilayah Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo berdasarkan tingkat cemaran bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella*. Penelitian ini menggunakan metode Most Probable Number (MPN) dengan tiga seri variasi tabung. Sampel diambil dari tujuh tempat yang berbeda di Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo.

Hasil metode MPN sampel 1 sampai sampel 6 memiliki nilai indeks MPN yang sama yaitu < 3 koloni/100 ml artinya tidak tercemar bakteri Coliform dan pada sampel 7 memiliki nilai indeks MPN yaitu >1100 koloni/ml artinya tercemar bakteri Coliform. Hasil uji lengkap identifikasi menggunakan media selektif EMBA negatif tidak ditumbuhi bakteri *Escherichia coli* melainkan di tumbuhi bakteri *Enterobacter aerogenes* dengan ciri-ciri koloni berwarna merah mudah dan untuk media selektif SSA positif ditumbuhi bakteri *Salmonella* dengan ciri-ciri koloni berwarna hitam. hal ini menunjukkan positif mengandung bakteri *Enterobacter aerogenes* dan bakteri *Salmonella* pada sampel 7.

Kata Kunci : air minum isi ulang, *Escherichia coli* dan *Salmonella*, Most Probable Number (MPN).

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the quality of refill drinking water sold in Cemani Village, Sukoharjo Regency based on the level of *Escherichia coli* and *Salmonella* bacteria contamination. This study uses the Most Probable Number (MPN) method with three series of tube variations. Samples were taken from seven different places in Cemani Village, Sukoharjo Regency.

The results of the MPN method sample 1 to sample 6 have the same MPN index value, which is < 3 colonies/100 ml meaning it is not contaminated with Coliform bacteria and sample 7 has an MPN index value > 1100 colonies/ml meaning it is contaminated with Coliform bacteria. Complete test results using selective EMBA media which does not contain *Escherichia coli* bacteria but *Enterobacter aerogenes* bacteria with pink colonies and for selective SSA media *Salmonella* bacteria grow with black colonies. This indicates that the sample contains bacteria *Enterobacter aerogenes* and positive *Salmonella* in sample 7.

Keywords : refill drinking water, *Escherichia coli* and *Salmonella*, Most Probable Number (MPN)

PENDAHULUAN

Air merupakan kebutuhan dasar bagi setiap makhluk hidup terutama penggunaan air minum pada manusia harus bebas dari kontaminasi mikroorganisme penyebab penyakit seperti bakteri *Coliform* misalnya bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* yang biasanya terdapat pada air yang terkontaminasi, sesuai dengan standar yang diterapkan oleh PERMENKES RI Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang persyaratan mikrobiologis kualitas air minum dimana kadar

maksimal yang diizinkan untuk *E. coli* dan *Coliform* setiap 100 ml sampel air minum yang diperiksa adalah 0 (nol). Pemenuhan kebutuhan air minum masyarakat saat ini sangat bervariasi. Di kota besar, dalam hal pemenuhan kebutuhan air minum masyarakat juga mengkonsumsi air minum dalam kemasan (AMDK), karena praktis dan dianggap lebih higienis. AMDK diproduksi oleh industri melalui proses otomatis dan disertai dengan pengujian kualitas sebelum diedarkan ke masyarakat, dengan berjalannya waktu masyarakat merasa bahwa AMDK semakin mahal, sehingga muncul alternatif lain yaitu air minum yang diproduksi oleh depot air minum isi ulang (DAMIU). DAMIU adalah badan usaha yang mengelola air minum untuk keperluan masyarakat dalam bentuk curah dan tidak dikemas.

Sebagai air minum, air minum isi ulang harus memenuhi persyaratan kualitas yang telah ditetapkan. sehingga pemerintah mengeluarkan peraturan menurut PERMENKES RI Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang persyaratan kualitas air minum meliputi ; persyaratan fisik, persyaratan kimia, persyaratan radiologis, dan persyaratan mikrobiologis, sehingga masyarakat tidak tercemar bakteri *Enterobacteriaceae*. Bakteri *Enterobacteriaceae* adalah kelompok bakteri yang dapat hidup dalam usus besar manusia dan hewan, dalam tanah, dan dalam air. Beberapa spesies *Enterobacteriaceae* yang sering menyebabkan infeksi pada saluran cerna manusia adalah; *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, dan *Yersinia enterocolitica*. Bakteri ini sering ditemukan pada feses dan bagian tubuh yang terinfeksi (Maksum Radji, 2010). Hampir di setiap jalan terdapat depot yang menjual air minum isi ulang. Namun kualitas air minum isi ulang masih diragukan karena diduga dapat terkontaminasi mikroba patogen jika penanganan dan pengolahannya kurang baik. Pemeriksaan kualitas bakteriologis air minum dalam kemasan termasuk air minum isi ulang harus dilakukan pemeriksaan cemaran bakterinya secara berkala. Dalam lampiran Kepmenkes No. 907 tahun 2002 ditetapkan bahwa pemeriksaan kualitas bakteriologi air minum dalam kemasan dan air minum isi ulang disebutkan bahwa pemeriksaan bakteriologis air baku untuk air minum harus dilakukan setiap 3 bulan sekali sedangkan untuk air minum yang siap dimasukkan ke dalam kemasan minimal 1 kali setiap bulan.

Menurut Muzajjanah dkk (2016), dalam penelitiannya tentang identifikasi bakteri *Escherichia coli* dalam air minum isi ulang yang disterilkan ultraviolet di wilayah Kecamatan Jagakarsa, menunjukkan bahwa hasil uji *Most Probable Number* (MPN) diperoleh 15 sampel tidak memenuhi syarat kualitas air minum secara mikrobiologi, dan satu sampel D.1 dengan hasil negatif *Coliform*. Hasil nilai *Coliform* tertinggi dari sampel depot A.1 dan sampel depot E.1 memiliki nilai yang sama yaitu sebesar 4,6 *Coliform*/100 ml. Uji identifikasi *Escherichia coli* dengan hasil 2 sampel terdapat bakteri *Escherichia coli* yaitu sampel B.1 dan Sampel F.2. Pada pewarnaan gram hasilnya positif. Uji *Indol Merah metil Voges-proskauer Citrate* (IMVic) hasilnya positif. *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) hasilnya positif dan uji katalase hasilnya positif.

Berdasarkan hal tersebut di atas maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian tentang analisis cemaran bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* pada depot air minum isi ulang di Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo. Pengambilan sampel air minum isi ulang di Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo dipilih karena terdapat beberapa depot air minum isi ulang dan hampir sebagian besar masyarakat mengkonsumsi air minum isi ulang karena harganya relatif murah.

METODE

Subjek penelitian ini adalah air minum isi ulang yang di jual di wilayah Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo. Metode penelitian ini adalah metode kuantitatif menggunakan teknik MPN dan menggunakan metode pewarnaan gram serta uji biokimia. Sampel air minum isi ulang diambil secara acak di Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo. Teknik analisis data dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* yang terkandung dalam air minum isi ulang masing-

masing sampel dengan menggunakan tabel MPN dan dibandingkan dengan standar tentang syarat-syarat kualitas air minum (parameter mikrobiologi) sehingga dapat diketahui kelayakan sampel yang diperiksa untuk dikonsumsi.

Berikut ini adalah tahapan penelitian yang akan dilakukan:

1. Pengambilan sampel

Sampel diambil di tujuh tempat yang berbeda di Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo yaitu : sampel 1 (Jl. Veteran Kel. Cemani), sampel 2 (Jl. Sidomusi Grogol Kel. Cemani), Sampel 3 (Jl. Tulang Abang Grogol Kel. Cemani), Sampel 4 (Jl. Turi Balu Kel. Cemani), Sampel 5 (Jl. Merari Batik Keris Kel. Cemani), sampel 6 (Jl. Merari Utara Batik Keris Kel. Cemani), dan Sampel 7 (Jl. Baroncili Kel. Cemani). Sampel di bawa ke kampus Politeknik Indonusa Surakarta menggunakan wadah botol steril yang sudah berisi air minum isi ulang yang dimasukkan kedalam kotak es batu steril dan dibawa ke laboratorium mikrobiologi kampus Politeknik Indonusa Surakarta untuk dilakukan penelitian.

2. Uji keberadaan bakteri *Escherichia coli* *Salmonella*, menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*)

- **Uji pendahuluan (*presumptive test*)**, pembuatan media LB (*Lactose Broth*), timbang media LB sebanyak 15,6 gram, larutkan dengan aquades 600 ml sambil dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di autoclave dengan suhu 121°C selama 15 setelah itu masukkan media LB kedalam tabung reaksi steril yang sebelumnya sudah dikasih tabung durham dengan posisi terbalik, kemudian dimasukkan sampel sesuai dengan volume yaitu 5 ml, 0,5 ml, dan 0,05 ml, setelah itu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°. Amati jika tabung positif akan terdapat gelembung dalam tabung durham dan kekeruhan pada media menandakan terdapat pertumbuhan bakteri *Coliform*. Tabung yang positif dilanjutkan ke uji penegasan.

Uji penegasan (*confirmed test*), timbang media BGLB (*Brilian Green Lactose Broth*) sebanyak 15,6 gram, larutkan dengan aquades 600 ml, dilakukan seperti uji pendahuluan, setelah diinkubasi selama 24 jam di amati tabung yang positif di tandai dengan terdapat gelembung dalam tabung durham dan kekeruhan pada media, maka dilanjutkan ke uji lengkap.

- **Uji lengkap (*completed test*)**, timbang media EMBA (*eosin methylene blue agar*) 7,5 gram larutkan dengan aquades 200 ml, dan timbang media SSA (*Salmonella Shigela Agar*) 12,6 gram larutkan dengan aquades 200 ml sambil kedua media dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian di autoclave dg suhu 121°C selama 15 menit, setelah itu dituangkan media EMBA maupun SSA ke cawan petri steril tunggu hingga 15 menit media memadat dan diambil 1-2 ose bakteri dari tabung yang positif di tanam pada kedua media tersebut kemudian di inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Amati pertumbuhan koloni pada media EMBA koloni akan memberi warna kilap hijau metalik berarti positif bakteri *Escherichia coli* dan pada media SSA koloni akan berwarna hitam positif bakteri *Salmonella*. Kemudian koloni di tanam di media NA.

- Uji Biokimia

Uji biokimia terdiri dari uji methyl red, uji SIM (Sulfida Indol Moltiliti), uji TSIA, uji Indol, uji Sitrat, dan uji LIA. Ambil koloni bakteri dari media NA 1-2 ose ditanam pada media yang berbeda tiap uji dan diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, kemudian amati perubahan warna yang terjadi tiap media uji.

- Pewarnaan Gram

Pembuatan preparat, ambil koloni bakteri dengan jarum ose dan goreskan pada objek gelas setipis mungkin. Objek dipanaskan dengan nyala api spiritus (jarak 20 cm) sampai kering preparat ditetes dengan formalin, tunggu 5 menit dan keringkan lagi, preparat siap dicat. Preparat digenangi dengan cat Gram A (kristal violet) selama 1-3 menit. Sisa cat dibuang tanpa dicuci dengan air, selanjutnya preparat digenangi dengan cat Gram B (iodium) selama 1 menit. Sisa cat dibuang dan preparat dicuci dengan air. Preparat ditetesi dengan cat Gram C (alkohol

96%) sampai warna cat tepat dilunturkan, selanjutnya preparat digenangi dengan cat Gram D (safranin) selama 1-2 menit. Preparat dicuci dan dikeringkan dengan posisi miring dan diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali, amati bentuk sel dan warna sel, jika positif terdapat bakteri *Escherichia coli*, maka ketika dilihat dibawah mikroskop tampak sel bakteri berwarna merah dan bentuk selnya batang (kokobasil) dan jika positif bakteri *Salmonella*, maka tampak sel bakteri berwarna merah dan bentuk selnya batang (Meganada Hirianya Putri, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah air minum isi ulang yang diambil dari tujuh depot air minum isi ulang yang berbeda di Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo yaitu : sampel 1 (Jl. Veteran Kel. Cemani), sampel 2 (Jl. Sidomusi Grogol Kel. Cemani), Sampel 3 (Jl. Tulang Abang Grogol Kel. Cemani), Sampel 4 (Jl. Turi Balu Kel.Cemani), Sampel 5 (Jl. Merari Batik Keris Kel.Cemani), sampel 6 (Jl. Merari Utara Batik Keris Kel.Cemani), dan Sampel 7 (Jl. Baroncili Kel. Cemani). Sampel tersebut kemudian di uji kandungan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* menggunakan metode MPN.

1. Hasil Uji Pendahuluan

Tahap pertama yang dilakukan penelitian ini yaitu uji pendahuluan menggunakan media laktosa broth, uji pendahuluan dilakukan untuk mengetahui sifat fermentasi/menghasilkan asam dan gas bakteri *Coliform* dalam sampel, karena beberapa jenis bakteri selain *Coliform* juga memiliki sifat fermentasi. Berdasarkan terbentuknya asam dan gas disebabkan karena fermentasi laktosa oleh bakteri golongan *coli* dan menggunakan laktosa sebagai sumber karbon. Hasil yang diperoleh setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C pada sampel 1, sampel 2, sampel 3, sampel 4, sampel 5, dan sampel 6 hasil negatif ditandai dengan tidak terdapat gelembung dalam tabung durham dan tidak terjadi kekeruhan pada media, hal tersebut dihitung sebagai tabung negatif artinya bahwa tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Coliform*, sedangkan pada sampel 7 hasil positif karena pada tabung durham terdapat gelembung dan juga kekeruhan pada media, hal tersebut dihitung sebagai tabung positif artinya terdapat pertumbuhan bakteri *Coliform*. Bakteri *Coliform* biasanya terdapat pada air minum dan makan yang telah terkontaminasi, bakteri *Coliform* dapat dibedakan atas dua kelompok yaitu *Coliform fecal*, misalnya *E.coli* dan *Coliform non fecal* misalnya *E. Aerogenes*. *E.coli* merupakan bakteri yang berasal dari kotoran hewan atau manusia sedangkan *E.aeroge* ditemukan pada hewan atau tumbuhan yang telah mati (Meganada Hirianya Putri, 2017)



Gambar 1. Hasil Negatif pada Tabung Media LB Uji Pendahuluan



Gambar 2. Hasil Positif pada Tabung Media LB Uji Pendahuluan

2. Hasil Uji Penegasan

Uji penegasan dilakukan untuk menegaskan bahwa di dalam sampel tersebut benar mengandung bakteri *Coliform* dengan menggunakan media *Brilliant Green Lactosa Broth* (BGLB). Media BGLB yang memiliki fungsi menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan membantu pertumbuhan bakteri gram negatif. Hasil yang diperoleh setelah inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C pada sampel 1, sampel 2, sampel 3, sampel 4, sampel 5, dan sampel 6 hasil negatif sedangkan pada sampel 7 hasil positif terdapat gas berupa gelembung dalam tabung Durham dan terdapat kekeruhan pada media. Hal ini menandakan terdapat pertumbuhan bakteri *Coliform*, sehingga tabung positif yang diperoleh dari tiap variasi volume yaitu 3.3.3 dan dicocokkan pada tabel MPN Menurut Maksum Radji (2010) dengan didapatkan nilai indeks MPN per ml pada sampel 7 yaitu > 1100 koloni/ml. Sampel 1 sampai sampel 6 memiliki nilai indeks MPN yaitu 3 < koloni/ml, sehingga *Coliform* pada sampel air minum isi ulang yang diteliti sesuai dengan menurut PERMENKES RI Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010, yaitu untuk *E. coli* dan *Coliform* setiap 100 ml sampel air minum yang diperiksa adalah 0 (nol). Persyaratan kualitas air minum yaitu untuk air bersih tidak boleh mengandung kuman patogen yang mengganggu kesehatan. Persyaratan bakteriologis ini ditandai dengan tidak adanya *E.coli* atau *Coliform* dalam air. Pada sampel 7 dengan hasil nilai MPN per ml yaitu > 1100 koloni/ml, sehingga *Coliform* pada sampel air minum isi ulang yang diteliti tidak sesuai dengan persyaratan yang ditetapkan, hal ini disebabkan karena kurangnya kebersihan dan sanitasi pada tempat depot air minum isi ulang pada sampel 7, air baku depot air minum isi ulang hasil observasi pada ke 7 depot air minum isi ulang di Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo adalah air baku berasal dari mata air gunung lawu. Air baku yang berasal dari mata air memiliki kualitas yang baik dibandingkan dengan air baku yang bersumber dari sumur (Ari 2015).



Gambar 3. Hasil Negatif pada Tabung Media BGLB Uji Penegasan



Gambar 4. Hasil Negatif pada Tabung Media BGLB Uji Penegasan

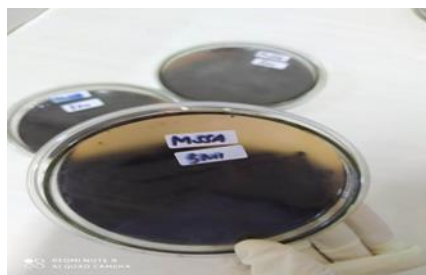
3. Hasil Uji Lengkap

Uji lengkap digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella* menggunakan media selektif, untuk bakteri *Escherichia coli* menggunakan media EMBA dengan ciri-ciri koloni tumbuh akan memberikan warna khas kemilau hijau metalik (Direktorat Pembinaan Sekolah Kejuruan Kementerian Pendidikan dan kebudayaan RI, 2013), dan untuk *Salmonella*

menggunakan media SSA dengan ciri-ciri koloni *Salmonella* berwarna hitam (Maksum Radji, 2010). Hasil setelah dilakukan inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C pada media EMBA terdapat pertumbuhan koloni berwarna merah muda, hal ini tidak sesuai menurut Direktorat Pembinaan Sekolah Kejuruan Kementerian Pendidikan dan kebudayaan RI, 2013 mengatakan bahwa bakteri *E.coli* tumbuh pada media EMBA dengan ciri-ciri koloni memberikan warna khas kemilau hijau metalik dan juga menurut pernyataan Darna dkk, 2012 bahwa bakteri anggota spesies *E.coli* yang tumbuh pada media EMBA akan berwarna hijau metalik, hal ini dikarenakan bahwa kemampuan yang dimiliki oleh bakteri dalam memfermentasi laktosa dan *Methilen blue*, sedangkan bakteri anggota spesies *Enterobacter aerogenes* akan berwarna merah muda hingga tidak berwarna. Bakteri anggota genus lain yang memiliki koloni transparan menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak memfermentasikan laktosa, sehingga dikatakan hasilnya negatif *E.coli*. Bakteri *Enterobacter aerogenes* termasuk dalam kelas *Enterobacteriaceae* yang merupakan bakteri fakultatif anaerob yang mampu menghasilkan H₂S, bakteri ini memiliki bentuk batang dengan lebar 0.6-1.0 µm dan panjang 1.2 – 3.0 µm, gram negatif, motil, dan optimal tumbuh pada suhu 37°C. Organisme ini mempunyai kapsul yang kecil, dapat ditemukan hidup bebas di air atau di saluran cerna dan dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (Jawetz dkk, 2008). Pada media SSA terdapat pertumbuhan koloni berwarna hitam hal ini sesuai dengan pernyataan Maksum Radji, 2010 bahwa koloni *Salmonella* berwarna hitam pada media SSA, artinya bahwa positif bakteri *Salmonella*. Hasil uji SSA memberikan zona kuning diantara koloni hitam dan pertumbuhan koloni hitam dan pertumbuhan mikroba berwarna merah atau hitam. Bakteri yang tidak menghasilkan laktosa seperti *Salmonella* akan berwarna bening dan terdapat warna hitam dibagian tengah, warna hitam pada bagian tengah merupakan indikasi adanya H₂S yang dihasilkan oleh *Salmonella* yang akan membedakan dengan *Shigella* (Komang, dkk, 2018).



Gambar 5. Pertumbuhan Bakteri pada Media Selektif EMBA



Gambar 6. Pertumbuhan Bakteri pada Media Selektif SSA

4. Hasil Uji Biokimia

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni bakteri hasil isolasi, uji biokimia bakteri berkaitan dengan proses metabolisme sel bakteri. Pada penelitian ini uji biokimia menggunakan media yang berbedah-bedah. Hasil uji biokimia isolat bakteri dari media

setelah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Uji methyl red, isolat bakteri dari media EMBA setelah diberi reagen metil merah Hasil tersebut dinyatakan negatif karena media tetap berwarna kuning dan jika hasilnya positif maka akan terjadi perubahan warna pada media ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada media. Pada bakteri *E.coli* selama fermentasi, akan menghasilkan asam lebih banyak dari pada *Enterobacter aerogenes* (nonfekal). Asam yang dihasilkan oleh *Escherichia coli* dapat menurunkan pH medium yang mengandung 0,5% glukosa sehingga mencapai pH 5.0, yang menyebabkan indikator merah metil yang diteteskan ke dalam medium tersebut menjadi berwarna merah. Asam yang di hasilkan oleh *Enterobacter aerogenes* hanya dapat menurunkan pH sampai sekitar 6.0 atau lebih, sehingga merah metil akan berwarna kuning. Kultur dalam medium MR-VP yang telah berumur 5-7 hari diberi tetes larutan merah metil. Warna merah menunjukkan hasil uji positif, sedangkan warna kuning menunjukkan hasil uji negatif (Koes Irianto, 2010).

Uji methyl red Isolat dari media SSA, setelah diberi reagen merah metil media berwarna merah menandakan bahwa hasilnya positif hal ini sesuai dengan Koes Irianto, 2010 bahwa bakteri *Salmonella* mampu memfermentasi asam yang dihasilkan dari fermentasi dari media yang mengandung glukosa. Jika hasilnya negatif maka media akan tetap berwarna kuning.

Uji SIM, digunakan untuk melihat adanya motilitas dari bakteri dan dapat diketahui pergerakan bakteri. yang diperoleh yaitu terbentuk warna hitam pada media menandakan terbentuknya H₂S, tidak terbentuk cincin berwarna merah pada media artinya indol negatif dan yang paling penting yaitu terdapat kekaburan media pada tempat tusuk ose hal tersebut menunjukkan hasilnya positif motilitas atau terdapat pergerakan bakteri. Bakteri *E.aerogenes* memiliki hasil positif pada uji SIM (Cowan, 1993), sama halnya dengan bakteri *E.coli* hasilnya positif menurut Koes Irianto, 2010. Hal ini sesuai dengan Koes Irianto, 2010. Umumnya bakteri *Salmonella* memberikan hasil positif pada uji SIM yang ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar, bergerak (motil) dan ada atau tidaknya H₂S. Uji SIM bertujuan untuk melihat pergerakan bakteri (afriyani dkk, 2016).

Uji TSIA, digunakan untuk melihat kemampuan mikroorganisme dalam memfermentasikan gula. Hasil sama untuk isolat bakteri dari media EMBA maupun SSA yang diperoleh yaitu glukosa positif ditandai dengan bagian dasar berwarna kuning dan bagian lereng berwarna merah, laktosa negatif ditandai dengan bagian dasar dan lereng tidak berwarna kuning, pembentukan gas dari glukosa positif ditandai dengan terdapat rongg-rongga dibagian bawah agar dan H₂S positif yaitu timbul warna hitam pada media. *E.aerogenes* pada uji TSIA menurut Cowan 1993 uji TSIA negatif. Bakteri *Salmonella* memberikan hasil positif (Koes Irianto, 2013)

Uji Indol, untuk isolat bakteri dari media EMBA setelah diberi reagen indol hasilnya negatif, karena isolat bakteri tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan indol dengan menggunakan enzim tryptophanase. Hasil tersebut dinyatakan negatif karena tidak terbentuk cincin berwarna merah pada permukaan media, jika hasilnya positif maka akan terbentuk cincin berwarna merah pada permukaan media. Bakteri yang tergolong dalam grup fekal dapat memecah asam amino triptofan, dan menghasilkan suatu senyawa yang berbau busuk yang disebut indol. Bakteri yang telah ditumbuhkan dalam medium yang mengandung triptofan, kemudian diberi 3-5 tetes pereaksi kovacs yang mengandung amil alkohol, atau diberi kristal asam oksalat. Adanya indol dapat menyebabkan amil alkohol berubah warnanya menjadi merah tua, atau warna kristal asam oksalat menjadi merah muda (Koes Irianto, 2010) dan menurut Cowan, 1993 menyatakan bahwa untuk bakteri *E.aerogenes* dengan hasil indol negatif.

Uji Sitrat, untuk isolat dari media SSA pada bakteri *Salmonella* mempunyai reaksi positif yang ditandai dengan adanya perubahan warna media menjadi biru. Hal tersebut disebabkan karena bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon maka media berubah menjadi basa dan berubah warna menjadi biru, jika hasilnya negatif maka tidak terjadi perubahan warna

media dari hijau menjadi biru, artinya bakteri ini tidak mempunyai enzim sitrat permease yaitu enzim spesifik yang membawa sitrat ke dalam sel. Sehingga bakteri tidak menggunakan citra sebagai salah satu/satu-satunya sumber karbon (Ruli Basuni, 2017).

Uji LIA, untuk isolat bakteri dari media SSA, diperoleh hasilnya positif ditandai dengan ada perubahan warna pada media yaitu media berwarna merah tua artinya positif deaminasi lisin, dekarboksilasi lisin ditandai dengan media berwarna ungu, dan juga menghasilkan H₂S ditandai dengan warna endapan hitam atas kemiringan tabung. Hal ini sesuai dengan Koes Irianto, 2010. Menurut Haryani dkk, 2012 mengatakan bahwa warna ungu pada media LIA disebabkan oleh bakteri *Salmonella* yang dapat mendekarboksilasi lisin dan menghasilkan amin kadaverin sehingga dapat merubah pH *bromocresol purple* menjadi warna ungu, dan juga menurut Siti dkk, 2018 pada media LIA agar dasar dan akan berwarna ungu, terdapat endapan berwarna hitam serta terdapat gas atau tidak yang ditandai dengan adanya cela pada media, perubahan warna tersebut terjadi karena adanya proses deaminasi lisin dan dekarboksilasi lisin.

5. Hasil Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk memilahkan bakteri menjadi dua kelompok besar yaitu bakteri gram negatif dan bakteri gram positif. Tujuan dari pewarnaan ini yaitu memudahkan melihat mikroba dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk mikroba dan menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia khas dari bakteri dengan zat warna. Hasil pewarnaan gram dari kedua koloni dan media yang berbeda dengan mengamati sel bakteri menggunakan mikroskop elektrik pada perbesaran 100 kali. Hasil yang didapat dari koloni yang berasal dari media EMBA (koloni warna merah muda) dan media SSA (koloni warna hitam) dengan hasil yang sama yaitu warna sel merah dan merah muda bentuk sel batang pendek, dan tergolong bakteri gram negatif. Sel bakteri berwarna merah dan merah muda disebabkan karena sel bakteri tidak dapat mempertahankan warna primer (kristal violet) ketika diberi larutan pemucat (alkohol) dan mengambil zat warna sekunder (safranin) sehingga sel bakteri berwarna merah ketika dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali.

Menurut Meganada Hiaranya Putri (2017), perbedaan respon terhadap mekanisme pewarnaan gram pada bakteri adalah didasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram positif mengandung protein dan gram negatif mengandung lemak dalam presentase lebih tinggi dan dinding selnya tipis. Pemberian alkohol (etanol) pada praktikum pewarnaan bakteri, menyebabkan terekstraksi lipid sehingga memperbesar permeabilitas dinding sel. Pewarnaan safranin masuk ke dalam sel dan menyebabkan sel menjadi berwarna merah pada bakteri gram negatif sedangkan pada bakteri gram positif dinding selnya terdehidrasi dengan perlakuan alkohol, pori - pori mengkerut, daya rembes dinding sel dan membran menurun sehingga pewarna safranin tidak dapat masuk sehingga sel berwarna ungu, yang merupakan warna dari kristal violet. Bakteri yang mempertahankan warna dasar ungu disebut bakteri gram positif dan bakteri yang mempertahankan warna kedua merah disebut bakteri gram negatif (Yusmaniar dkk, 2017).

Hasil dari pewarnaan gram pada koloni berwarna merah muda dari media EMBA dapat dideteksi bahwa bakteri tersebut adalah bakteri *Enterobacter aerogenes* merupakan bakteri gram negatif ketika dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 kali berwarna merah dan bentuk sel bakteri berbatang pendek sama halnya juga dengan koloni berwarna hitam dari media SSA merupakan bakteri *Salmonella* dan ketika dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 100 kali koloni berwarna merah muda dan bentuk koloni batang pendek.

Tabel 1. Hasil Deteksi Cemaran Bakteri *E. coli* dan *Salmonella* pada Sampel Air Minum Isi Ulang

Sampel	Bakteri		Bakteri Lain
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i>	
1	(-)	(-)	(-)
2	(-)	(-)	(-)
3	(-)	(-)	(-)
4	(-)	(-)	(-)
5	(-)	(-)	(-)
6	(-)	(-)	(-)
7	(-)	(+)	(+) <i>Enterobacter aerogenes</i>

Hasil yang didapat dari Tabel 4.1 disimpulkan bahwa deteksi cemaran bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Salmonella* pada air minum isi ulang yang dijual di wilayah Kelurahan Cemani Kabupaten Sukoharjo Kota Surakarta pada sampel 1, sampel 2, sampel 3, sampel 4, sampel 5, dan sampel 6 hasilnya negatif artinya bahwa tidak tercemar bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* dan bakteri *Coliform* lainnya, sedangkan pada sampel 7 hasilnya negatif tidak tercemar bakteri *Escherichia coli* tetapi positif tercemar bakteri *Salmonella* dan tercemar bakteri *Coliform* lain yaitu *Enterobacter aerogenes*. Keberadaan bakteri *Coliform* disebabkan karena beberapa faktor penyebab terkontaminasi sampel air minum isi ulang berdasarkan observasi dilihat bahwa area disekitar tempat penjualan air minum isi ulang kurang bersih. Menurut penelitian Riska Epina Hayu dkk, 2018 dengan hasil kualitas mikrobiologi air minum isi ulang pada 7 sampel air minum isi ulang menunjukkan 6 AIMU memenuhi syarat dan 1 air minum isi ulang tidak memenuhi syarat, karena kurangnya berperilaku higiene, tidak mencuci tangan sebelum melayani konsumen dan hampir semua depot tidak memiliki sertifikat kursus higiene sanitasi depot air minum dan menurut penelitian Nur Maulida Aulia dkk, 2017 pada sampel air minum isi ulang non PDAM yang memiliki memiliki angka cemaran bakteri paling sedikit yaitu pada sampel C1, C2, D2 dan angka cemaran bakteri paling banyak ditemukan pada sampel A1 karena depot tersebut memiliki sanitasi yang kurang, banyak terdapat debu yang menempel pada mesin isi ulang, kurangnya kepaahaman pemilik depot terhadap pemeriksaan kualitas air secara berkala sehingga alat filtrasi yang digunakan tidak.

KESIMPULAN

1. Sampel 1, sampel 2, sampel 3, sampel 4, sampel 5 dan sampel 6 memiliki nilai indeks MPN yang sama yaitu < 3 koloni/100 ml, sehingga memenuhi persyaratan menurut PERMENKES RI Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010 yaitu untuk *E. coli* dan *Coliform* setiap 100 ml sampel air minum yang diperiksa adalah 0 (nol), sedangkan sampel 7 memiliki nilai indeks MPN yaitu > 1100 koloni/100 ml, sehingga tidak memenuhi persyaratan bakteriologis dan juga kurangnya kebersihan pada depot air minum isi ulang.
2. Sampel 1, sampel 2, sampel 3, sampel 4, sampel 5 dan sampel 6 tidak tercemar bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella* dan *Coliform* lainnya, sedangkan sampel 7 tidak tercemar bakteri *Escherichia coli* tetapi tercemar bakteri *Salmonella* dan bakteri *Coliform* yaitu *Enterobacter aerogenes* dengan ciri-ciri yang tumbuh pada media selektif EMBA dengan koloni berwarna merah muda.

DAFTAR PUSTAKA

Afriyani., Darmawati., Fakhurrrazi., Zakiah Hermawati Mana., Mahdi Abrar., Winaruddin. 2016, Isolasi Bakteri *Salmonella* sp Pada feses Anak Ayam Broiler Di Pasar Ulee Kareng Banda Aceh, *Jurnal Medika Veterinaria*, Vol 10, Hal 74-76.

Ari Khoeriyah., Anies. 2015, Aspek Kualitas Bakteriologis Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di Kabupaten Bandung Barat, *Jurnal Majalah Kedokteran Bandung*, **Vol 47**, Hal 137-143.

Cowan, Steels, 1993, *Manusl For The Identification Of Medical Bacteria*, Penerbit *yndicate University Of Cambridge*, Inggris.

Darna., Masnur Turnip., Rahmawati. 2018, Identifikasi Bakteri Anggota *Enterobacter* Pada Makanan Tradisional Sotong Pangkong, *Jurnal Labora Medika*, **Vol 2**, Hal 6-12.

Direktorat Pembinaan Sekolah Menengah Kejuruan Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, 2013, *Buku Te Bahan Ajar Siswa Mikrobiologi*, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia.

Haryani Y., Chainulfiffah., Rustiana. 2012, Fermentasi Karbohidrat Oleh Isolat *Salmonella* spp Dari Jajanan Pinggir Jalan, *Jurnal Indo Che Acta*, **Vol 3**, Hal 23-26.

Jawets., Melnick., Adelbers, 2008, *Mikrobiologi Kedokteran*, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.

Komang Aditya Arya Prayoga., Ni Nengah Dwi Fatmawati, 2018, Identifikasi *salmonella* spp Pada Feses Penjamah Makanan di Rumah Potong Ayam RJ dengan Metode Kultur, *Jurnal Intisari Sains Medika*, **Vol 9**, Hal 1-5.

Koes Irianto, 2013, *Mikrobiologi Medis*, Penertbit Alfabeta, Bandung.

Maksum Radji, 2009, *Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, edisi I, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Meganada Hiaranya Putri, M.Kes., Sukini, S.SiT, MH.Kes., Yodong, S.St., MH.Kes, 2017, *Mikrobiologi Bahan Ajar Keperawatan Gigi*, Penertbit Pusat Pendidikan Sumberdaya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan Dan pemberdayaan Sumberdaya Manusia Kesehatan, Jakarta Selatan.

Menteri Kesehatan RI, 2002, Syarat Kualitas Air Minum, Permenkes Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 492, www.air.minumor.id>permenkes-492, *tentang peryaratan kualitas air minum*, Diakses Tanggal 24 Januari 2019, Jam 12:42

Menteri Kesehatan RI, 2002, Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum, Keputusan Menti Kesehatan RI No 907, <https://www.google.Kepermenkes-907>, *tentang Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum*, Diakses Tanggal 6 Sebtember 2020.

Nur Maulida Aulia, 2017, Identifikasi Bakteri Air Minum Isi Ulang dari Depot yang Menggunakan Sumber Air Minum Non PDAM Di Kota Samarinda, *Jurnal Ilmiah Manuntung*, **Vol 3**, Hal 158-165.

Riska Epina Hayu., Fitri Mairizki., Ermayulis, 2018, Higiene Sanitasi dan Uji *Escherichia coli* Depot Air Minum Isi Ulang (Damiu) di Kelurahan Pesisir, Kecamatan Lima Puluh, Kota Pekan, *Jurnal Kesehatan Vokasional*, **Vol 3**, Hal 74-80.

Ruli Basuni, 2017, *Modul Keahlian Ganda Kesehatan Hewan Sekolah Menengah Kejuruan Mikroorganisme dan Vaksinasi*, Penertbit Kementerian Pendidikan Dan Kebudayaan Pusat Pengembangan Dan Pemberdayaan Pendidik Dan Tenaga Kependidikan Pertanian Cianjur, Jakarta.

Siti Khalijatin Nisa., Eko Kusumawati., Yuyun Kusuma Wardani, 2018, Deteksi Cemaran *Salmonella* sp Pada Daging Ayam Di Rumah Potong Ayam dan Pasar Tradisional Kecamatan Samarinda Seberang, *Jurnal Sains dan Terapan Politeknik Hasnur*, **Vol 6**, Hal 24-30

Yusmaniar, Dra, M Biomed., Apt, Wardiyah, Msi, Apt, Khairun Nida, S.Si.,M Biomed., Apt, 2017, *Mikrobiologi dan Parasitologi*, Penertbit Pusat Pendidikan Sumberdaya Manusia Kesehatan Badan Pengembangan Dan pemberdayaan Sumberdaya Manusia Kesehatan, Jakarta Selatan.