

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Air minum adalah air yang melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum. Syarat-syarat kualitas air minum sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010, diantaranya adalah Parameter mikrobiologi E Coli dan total bakteri koliform, kadar maksimum yang diperbolehkan 0 per 100 ml sampel, syarat secara fisik harus tidak berbau, tidak berasa, dan tidak berwarna, syarat secara kimia adalah kadar besi maksimum yang diperbolehkan 0,3 mg/l, dan kesadahan nya (maksimal 500 mg/l) serta pH 6,5-8,5.<sup>1</sup>

Untuk memenuhi syarat kualitas air minum diatas, maka dimanfaatkanlah kemajuan teknologi yang menyediakan air minum rumah tangga yang telah melalui proses pengolahan. Salah satunya adalah penyediaan depot air minum isi ulang yang banyak dijual hampir di setiap jalan dengan harga murah dan dapat langsung diminum karena telah mengalami beberapa proses pengolahan meliputi penampungan air baku, filtrasi dan desinfeksi dengan menggunakan ozon melalui penyinaran dengan sinar ultraviolet untuk mendapatkan air bersih.<sup>2,3,4</sup> Meskipun tergolong murah, namun tidak semua depot air minum isi ulang terjamin keamanan produknya sehingga tidak memenuhi persyaratan kualitas air minum dan dapat menimbulkan kerugian bagi kesehatan misalnya keracunan zat kimia persisten maupun penyebaran penyakit melalui air (*water borne disease*).<sup>5</sup>

Agar kualitas air minum sesuai dengan standar yang berlaku maka perlu dilakukan pengawasan. Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010, pengawasan kualitas air minum dilaksanakan oleh Dinas Kesehatan Kabupaten/Kota secara berkala meliputi kegiatan: inspeksi sanitasi, pengambilan sampel air, pemeriksaan laboratorium, rekomendasi dan

tindak lanjut. Salah satu pemeriksaan laboratorium yang digunakan untuk menganalisis kualitas air tersebut adalah pemeriksaan mikrobiologi.<sup>1</sup>

Pemeriksaan mikrobiologi merupakan pemeriksaan yang digunakan untuk mendeteksi mikroorganisme yang mengkontaminasi air minum, seperti: *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Shigella dysenteriae*, *Entamoeba histolytica*, *Vibrio comma*, *Clostridium tetani*. Salah satu pemeriksaan mikrobiologi untuk menguji kualitas air adalah *Multiple Tube Method* atau yang biasa disebut uji *Most Probable Number (MPN)*. Uji MPN digunakan untuk mendeteksi kelompok organisme *coliform* pada sampel air. Salah satu jenis air yang digunakan adalah air minum isi ulang yang banyak kita temui di lingkungan masyarakat.<sup>2,4,6</sup>

Air yang tercemar oleh bakteri *coliform* dapat menyebabkan berbagai penyakit (*water borne disease*), salah satunya yang paling sering adalah diare. Berdasarkan hasil pemeriksaan air produk depot air minum isi ulang pada 138 sampel di Kabupaten Tegal, terdapat 67 sampel (48,6%) yang tercemar bakteri *coliform* dan bakteri *E.coli*. Data ini mendukung angka kejadian diare di Kabupaten Tegal yaitu 106.389 orang dari berbagai umur dari 1.392.260 penduduknya.<sup>7,8</sup>

Laporan Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) tahun 2007 menunjukkan bahwa penyakit diare merupakan penyebab kematian nomor satu pada bayi (31,4%), dan balita (25,2%). Berdasarkan data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Utara tahun 2012, diperkirakan terdapat sekitar 559.011 kasus diare. Berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Kota Medan pada tahun 2013, salah satu puskesmas dengan angka kejadian kunjungan kasus diare yang tinggi adalah Puskesmas Amplas Kecamatan Medan Amplas yaitu 1148 kasus.<sup>3,8,9,10</sup>

Melihat tingginya angka kejadian diare tersebut, maka peneliti ingin mengetahui apakah air minum isi ulang yang dijual di depot air minum isi ulang

di Kecamatan Medan Amplas telah sesuai dengan standar air minum yang sehat dan aman secara mikrobiologi.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Bagaimana hasil dari uji *Most Probable Number* dalam mendeteksi bakteri *coliform* pada air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui apakah air minum isi ulang yang dijual di depot air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas telah sesuai dengan standar air minum yang sehat dan aman secara mikrobiologi.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

Yang menjadi tujuan khusus dalam penelitian ini adalah :

1. Mendata sumber asal air dan proses desinfeksi terhadap air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas
2. Mendeteksi adanya bakteri *coliform* yang terdapat pada air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas.
3. Mengetahui jumlah bakteri *coliform* yang terdapat pada air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas.
4. Mengetahui persentase air minum isi ulang yang telah terkontaminasi bakteri *coliform* yang dijual di depot air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat untuk :

- a. Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen
  1. Menambah sumber referensi penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen.
  2. Dapat memberikan informasi mengenai pencemaran bakteri *coliform* pada depot air minum isi ulang yang dijual untuk umum.

b. Peneliti

1. Menambah pengetahuan peneliti tentang uji bakteriologis yang merupakan salah satu pemeriksaan standar air minum yang aman.
2. Menambah pengetahuan peneliti tentang penelitian eksperimental untuk uji mikrobiologi air minum yang aman.

c. Dinas Kesehatan Setempat

Agar dapat melakukan pengawasan eksternal secara berkala terhadap kualitas air minum isi ulang

d. Para Pemilik Depot air minum isi ulang

Agar lebih lagi melakukan pengawasan serta pemeliharaan terhadap pengolahan air minum isi ulang

e. Masyarakat

Mengetahui air minum isi ulang yang aman dan tidak aman untuk dikonsumsi.

## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Air Minum

Air minum adalah air yang melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum. Menurut Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan Nomor 651 tahun 2004, air minum adalah air baku yang telah diproses dan dapat langsung diminum.<sup>1,2</sup>

#### 2.1.1. Syarat Kualitas Air Minum

Air minum yang aman bagi kesehatan adalah air minum yang memenuhi persyaratan fisika, kimiawi, mikrobiologis dan radioaktif.<sup>1</sup>

##### 2.1.1.1. Persyaratan Fisika

Persyaratan fisika merupakan persyaratan yang wajib dipenuhi untuk mendapatkan air minum yang berkualitas. Persyaratan fisika yaitu air harus bebas dari bau dan rasa, warna air harus jernih dan tidak berwarna, air harus bebas dari kekeruhan.

Tabel 2.1. Kualitas air minum menurut syarat fisika<sup>1</sup>

No	Jenis Parameter	Satuan	Kadar Maksimum yang diperbolehkan
1	Bau		Tidak Berbau
2	Warna	TCU	15
3	Total zat padat terlarut atau <i>Total Dissolved Solids (TDS)</i>	mg/l	500
4	Kekeruhan	NTU	5
5	Rasa		Tidak Berasa
6	Suhu	<sup>0</sup> C	Suhu udara ± 3

Sumber : PERMENKES RI NO. 492/MENKES/PER/IV/2010

### 2.1.1.2.Persyaratan Kimiawi

Air minum yang sehat harus mengandung zat-zat tertentu dan dalam jumlah tertentu pula. Zat – zat tertentu itu adalah :

Tabel 2.2. Kualitas air minum menurut syarat kimiawi<sup>1</sup>

No	Jenis Parameter	Satuan	Kadar Maksimum yang diperbolehkan
Kimia an-organik			
1	Arsen	mg/l	0,01
2	Kadmium	mg/l	0,003
3	Sianida	mg/l	0,07
4	Total Kromium	mg/l	0,05
5	Nitrit	mg/l	3
6	Nitrat	mg/l	50
7	Flourida	mg/l	1,5
8	Selenium	mg/l	0,01
9	Aluminium	mg/l	0,2
10	Besi	mg/l	0,3
11	Kesadahan	mg/l	0,4
12	Zink	mg/l	5
13	Klorida	mg/l	75
14	PH		6,5-8,5
15	Sulfat	mg/l	200
16	Amonia	mg/l	1,5
17	Tembaga	mg/l	2
18	Seng	mg/l	3
19	Air raksa	mg/l	0,001
20	Antimon	mg/l	0,02
21	Barium	mg/l	0,7
22	Boron	mg/l	0,5
23	Molybdenum	mg/l	0,07

24	Nikel	mg/l	0,07
25	Sodium	mg/l	200
26	Timbal	mg/l	0,07
27	Uranium	mg/l	0,015
Kimia Organik			
28	Zat organik (KmnO4)	mg/l	10
29	Deterjen	mg/l	0,05
Chlorinated alkanes			
30	Dichloromethane	mg/l	0,02
31	Carbon tetrachloride	mg/l	0,004
32	1,2-dichloroethane	mg/l	0,05
Chlorinated ethenes			
33	1,2-dichloroethene		
34	Trichloroethene	mg/l	0,02
35	Tetrachloroethene	mg/l	0,04
Aromatic Hydrocarbons			
36	Benzene	mg/l	0,01
37	Toluene	mg/l	0,7
38	Xylenes	mg/l	0,5
39	Ethylbenzene	mg/l	0,3
40	Styrene	mg/l	0,02
Chlorinated Benzenes			
41	1,2-Dichlorobenzenes	mg/l	1
42	1,4- Dichlorobenzenes	mg/l	0,3
Lain –lain			
43	Diphthalate	mg/l	0,008
44	Acrylamide	mg/l	0,0005
45	Epichlorohydrin	mg/l	0,0004
46	Hexachlorobutadiene	mg/l	0,0006

47	Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)	mg/l	0,6
48	Nitrilotriacetic acid (NTA)	mg/l	0,2
Pestisida			
49	Alachlor	mg/l	0,02
50	Aldicarb	mg/l	0,01
51	Aldrin dan dieldrin	mg/l	0,00003
52	Atrazin	mg/l	0,002
53	Carbofuran	mg/l	0,007
54	Chlordane	mg/l	0,0002
55	Chlorotoluron	mg/l	0,03
56	DDT	mg/l	0,001
57	1,2-Dibromo 3-chloropropane (DBCP)	mg/l	0,001
58	2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)	mg/l	0,03
59	1,2-dichloropropane	mg/l	0,04
60	Isoproturon		0,009
61	Lindane	mg/l	0,002
62	MCPA	mg/l	0,002
63	Methoxychlor	mg/l	0,02
64	Metolachlor	mg/l	0,01
65	Molinate	mg/l	0,006
66	Pendimethaline	mg/l	0,02
67	Pentachlorophenol	mg/l	0,009
68	Permethrin	mg/l	0,3
69	Simazine	mg/l	0,002
70	Trifluralin	mg/l	0,02
Chlorophenoxy herbicides selain 2,4 D dan MCPA			
71	2,4-DB	mg/l	0,090
72	Dichlorprop	mg/l	0,10

73	Fenoprop	mg/l	0,009
74	Mecoprop	mg/l	0,001
75	2,4,5- Trichlorophenoxyacetic acid	mg/l	0,009
Desifektan dan hasil sampingannya			
Desifektan			
76	(Chlorine)	mg/l	5
Hasil sampingan			
77	Bromate	mg/l	0,01
78	Chlorate	mg/l	0,7
79	Chlorite	mg/l	0,7
Chlorophenols			
80	2,4,6-Trichlorphenol (2,4,6- TCP)	mg/l	0,2
81	Bromoform	mg/l	0,1
82	Dibromochloromethane	mg/l	0,1
83	Bromodichloromethane	mg/l	0,06
84	Chloroform	mg/l	0,3
Chlorinates acetic acid			
85	Dichloroacetic acid	mg/l	0,05
86	Trichloroacetic acid	mg/l	0,02
Chloral hydrate			
Halogenated acetonitrilies			
87	Dichloroacetonitrile	mg/l	0,2
88	Dibromoacetonitrile	mg/l	0,07
89	Cyanogen Chloride (CN)	mg/l	0,07

Sumber : PERMENKES RI NO. 492/MENKES/PER/IV/2010

### 2.1.1.3. Persyaratan Mikrobiologis

Persyaratan Mikrobiologis merupakan persyaratan yang paling baik dan sensitif untuk mendeteksi kontaminasi air oleh bakteri.

Tabel 2.3. Kualitas air minum menurut syarat mikrobiologis<sup>1</sup>

No	Jenis Parameter	Satuan	Kadar maksimum yang diperbolehkan
1	<i>Escherichia coli</i>	Jumlah per 100 ml sampel	0
2	Total bakteri Koliforms	Jumlah per 100 ml sampel	0

Sumber : PERMENKES RI NO. 492/MENKES/PER/IV/2010

### 2.1.1.4. Persyaratan Radioaktif

Tabel 2.4. Kualitas air minum menurut syarat radioaktif<sup>1</sup>

No	Parameter	Satuan	Kadar Maksimum yang diperbolehkan
1	Gross alpha activity	Bq/l	0,1
2	Gross beta activity	Bq/l	1

Sumber : PERMENKES RI NO. 492/MENKES/PER/IV/2010

## 2.2. Depot Air Minum Isi Ulang

Menurut Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan Nomor 651 Tahun 2004, depot air minum adalah usaha industri yang melakukan proses pengolahan air baku menjadi air minum dan menjual langsung kepada konsumen.<sup>2</sup> Untuk mendirikan usaha depot air minum isi ulang (DAMIU), ada yang harus dipenuhi, yaitu<sup>2</sup> :

- a. Depot air minum wajib memiliki Tanda Daftar Industri (TDI) dan Tanda Daftar Usaha Perdagangan (TDUP) dengan nilai investasi perusahaan

seluruhnya sampai dengan Rp 200.000.000,- (dua ratus juta rupiah) tidak termasuk tanah dan bangunan tempat usaha.

- b. Depot air minum wajib memiliki Surat Jaminan Pasok Air Baku dari PDAM atau perusahaan yang memiliki izin Pengambilan Air dari instansi yang berwenang.
- c. Depot air minum wajib memiliki laporan hasil uji air minum yang dihasilkan dari laboratorium pemeriksaan kualitas air yang ditunjuk Pemerintah Kota/Kabupaten atau yang terakreditasi.

Jenis – jenis mesin dan peralatan dalam depot air minum yang harus dimiliki<sup>2,4</sup> :

- a. Bak atau tangki penampungan air baku
- b. Unit pengolahan air, terdiri dari :
  1. Prefilter (saringan pasir = *sand filter*)  
Fungsi prefilter adalah untuk menyaring partikel-partikel yang kasar dengan bahan dari pasir atau jenis lain yang efektif dengan fungsi yang sama.
  2. Karbon filter  
Fungsi karbon filter adalah sebagai penyerap bau, rasa, warna, sisa klor dan bahan organik
  3. Filter lain  
Fungsi filter lain adalah sebagai saringan halus berukuran maksimal 10 (sepuluh) mikron
  4. Sistem RO (*Reverse Osmosis*)  
Fungsi RO dengan menggunakan *membran semi permeable* yaitu mampu mereduksi logam-logam dan garam yang berlebih seperti Sodium (S), Potasium (P), Arsen (As), Timbal (Pb), dan Cadmium (Cd) hingga 98%. Selain itu juga mampu mereduksi senyawa organik, bakteri, virus, jamur dan cemaran pestisida sehingga dihasilkan air murni dengan kandungan mineral dan partikel padat zat terlarut

rendah. Kemudian tahapan akhir sistem RO adalah menggunakan karbon aktif yang berbentuk bubuk yang berfungsi menjernihkan dan menyerap bau dan rasa.

5. Alat desinfektan (ozonisasi dan atau UV yang panjang gelombang 254 mm atau 2537 Å)

Fungsi desinfektan adalah untuk membunuh kuman patogen.

### c. Alat Pengisian

Mesin dan alat yang digunakan untuk memasukkan air minum ke dalam wadah.

Proses produksi air minum di depot air minum isi ulang, yaitu<sup>2</sup> :

#### a. Penampungan air baku

Air baku yang diambil dari sumbernya diangkut dengan menggunakan tangki dan selanjutnya ditampung dalam bak atau tangki penampung (*reservoir*). Bak penampung harus terbuat dari bahan tara pangan (*food grade*,) harus bebas dari bahan-bahan yang dapat mencemari air.

Tangki pengangkutan mempunyai persyaratan, yaitu<sup>2</sup> :

1. Khusus digunakan untuk air minum
2. Mudah dibersihkan serta di desinfektan dan diberi pengaman
3. Harus mempunyai *manhole*
4. Pengisian dan Pengeluaran air harus melalui kran
5. Selang dan pompa yang dipakai untuk bongkar muat air baku harus diberi penutup yang baik, disimpan dengan aman dan dilindungi dari kontaminasi.

#### b. Penyaringan

Penyaringan di depot air minum dilakukan secara bertahap, yang terdiri dari:

1. Saringan berasal dari pasir atau saringan lain yang efektif dengan fungsi yang sama. Fungsi saringan pasir adalah menyaring partikel-partikel yang kasar. Bahan yang dipakai adalah butir-butir silica ( $\text{SiO}_2$ ) minimal 80 %.
2. Saringan karbon aktif yang berasal dari batu bara atau batok kelapa berfungsi sebagai penyerap bau, rasa, warna, sisa klor dan bahan organik
3. Saringan halus berukuran maksimal 10 mikron.

#### c. Desinfeksi

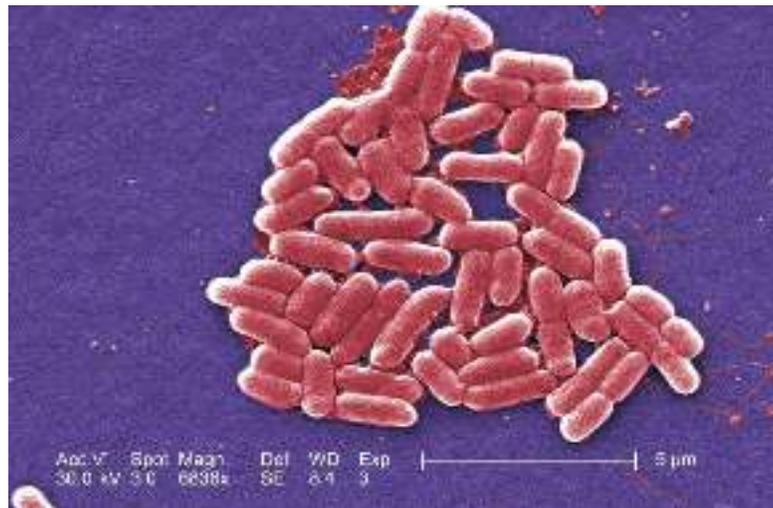
Proses desinfeksi dengan menggunakan Ozon ( $\text{O}_3$ ) berlangsung dalam tangki atau alat pencampur ozon lainnya dengan konsentrasi ozon minimal 0,1 ppm dan residu ozon sesaat setelah pengisian berkisar antara 0,06 – 0,1 ppm. Selain menggunakan ozon, dapat dilakukan dengan penyinaran ultraviolet (UV) dengan melewati air ke dalam tabung atau pipa yang disinari dengan lampu sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm atau  $2537 \text{ \AA}$ .

## 2.3. Bakteri *Coliform*

### 2.3.1. Definisi

Dalam metode standar untuk pemeriksaan air dan air limbah (*American Public Health Association*, 2005), anggota kelompok *coliform* digambarkan sebagai:

1. Semua bakteri aerobik dan fakultatif anaerobik, tidak membentuk spora, bakteri berbentuk batang, gram-negatif yang memfermentasi laktosa dengan gas dan membentuk asam pada suhu 35°C atau 37°C dalam waktu 48 jam atau;
2. Semua bakteri aerobik dan banyak bakteri fakultatif anaerobik, bakteri berbentuk batang gram-negatif, tidak membentuk spora, yang tumbuh sebagai koloni merah dengan kemilau logam pada 35°C atau 37°C dalam waktu 24 jam pada media yang mengandung laktosa.<sup>11</sup>



Gambar 2.1. Bakteri *coliform*<sup>12</sup>

Sumber : *Public Health Image Library*. CDC. 2006

### 2.3.2. Jenis- Jenis Bakteri *Coliform*

Bakteri yang termasuk genus *coliform* adalah seperti berikut: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Serratia*, *Hafnia*, *Pantoea*, *Kluyvera*, *Cedecea*, *Ewingella*, *Moelleralla*, *Lectercia*, *Rahnella*, dan *Yokenella*.<sup>11</sup>

### 2.3.3. Dampak Kontaminasi Bakteri *Coliform*

Orang yang terpapar air yang terkontaminasi oleh *coliform* dapat menderita demam, diare, perut kram, nyeri dada, atau hepatitis. Selama mandi, paparan *coliform* juga dapat menyebabkan infeksi saluran kemih. Bakteri patogen asal feses yang dapat mengancam kesehatan, yaitu: *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Escherichia coli* serotipe O157:H7 merupakan serotipe yang paling signifikan dalam menyebabkan kolitis hemoragik dengan diare berdarah dan sindrom uremik hemolitik (HUS). Ada juga jenis *E.coli* lain, seperti : *Enterotoxigenic E.coli* (ETEC) menyebabkan *secretory diarrhea* seperti pada kolera, *Enteropathogenic E.coli* (EPEC) menyebabkan diare, terutama pada bayi dan anak- anak, *Enteroinvasive E. Coli* (EIEC) menyebabkan penyakit diare seperti disentri, *Enteraggagative E.coli*, dan *Diffusely Adherent E.coli* (EAEC) yang kebanyakan ditularkan secara fekal-oral.<sup>11</sup>

### 2.3.4. Metode Laboratorium untuk Mendeteksi Bakteri *Coliform*

Semua metode identifikasi total *coliform* membutuhkan kultur dari sampel pada media khusus. Proses pembuatan kultur membutuhkan waktu sekitar 1-3 hari untuk tumbuh sebelum menafsirkan data bakteri. Ada tiga prosedur laboratorium utama yang umumnya digunakan untuk mendeteksi *coliform* dalam sampel air, yaitu<sup>11</sup>:

1) *Multiple Tube / Most Probable Number (MPN)*

Metode ini dikembangkan pada tahun 1900-an dengan menggunakan tabung reaksi dengan tujuan untuk mengukur jumlah produksi gas yang dihasilkan oleh organisme *coliforms* pada reaksi dengan menggunakan tabung Durham selama inkubasi 48 jam. Hasil dari reaksi tersebut dilaporkan dalam jumlah yang paling mungkin dari organisme (MPN) per 100 mililiter sampel. Bahan yang digunakan pada tabung adalah laktosa sebagai media uji penduga (*Presumptive test*). Kemudian setelah reaksi tabung tadi positif dengan adanya gas pada tabung tersebut, maka dilanjutkan dengan uji penegas (*Confirmative test*). Metode ini mudah dilakukan dan dapat diandalkan karena hanya memerlukan dasar pelatihan mikrobiologi dan relatif ekonomis.

2) *Membran Filter (MF) Method*

Metode ini berkembang pada tahun 1950-an, membran filter yang digunakan biasanya memiliki poros  $0,45\mu\text{m}$  dengan diameter sekitar 50 mm. Teknik membran filter adalah awalnya alat filtrasi disterilkan kemudian membran filter dimasukkan ke dalam alat filtrasi, kemudian sampel dialirkan dan hasilnya akan diinkubasikan pada kertas saring untuk melihat koloni organisme selama 22 jam. Hasilnya akan dihitung melalui *colony forming units* (CFUs) per 100 mililiter sampel. Media lain yang digunakan pada metode ini adalah media endo agar, media MacConkey agar, Teepol agar. Metode ini lebih sederhana daripada Metode MPN akan tetapi metode ini mempunyai keterbatasan menguji air yang terkontaminasi berat atau hasilnya yang memiliki banyak bakteri yang non *coliform*.

3) *MMO Chromogenic Fluorogenic Method*

Metode ini dikembangkan pada akhir tahun 1980-an. Metode ini mengkulturkan *coliform* dalam sampel botol dengan menginkubasikan

selama 18-28 jam. Perubahan warna kuning pada media mengindikasikan bahwa adanya total *coliform* dan kondisi fluorensi saat di bawah sinar hitam akan mengindikasikan adanya *E.coli*. Metode ini menggunakan radiasi sinar UV untuk melihat perubahan warna pada media tersebut.

#### 2.4. Uji Most Probable Number (MPN)

Uji *Most Probable Number* (MPN) merupakan suatu metode tabung fermentasi yang dapat digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri *coliform* pada air.<sup>5</sup> Uji MPN meliputi tahap<sup>6,13</sup>:

##### 1. Uji Penduga (*Presumptive test*)

Sampel air minum pertama sekali diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi medium *Lacotse Broth* serta tabung durham dalam posisi terbalik. Selama 48 jam disimpan di inkubator pada temperatur 37<sup>0</sup> C, maka pertumbuhan beberapa bakteri akan melakukan fermentasi terhadap laktosa. Hasilnya setelah 48 jam akan terlihat, jika hasil tes pada tabung tadi tidak ada gas maka tes dikatakan negatif, dan ini berarti air aman untuk diminum, dan sebaliknya jika hasil tes terdapat gas maka dikatakan positif dan ini berarti air tidak aman untuk diminum. Namun beberapa bakteri non *coliforms* dapat menghasilkan positif palsu dalam uji penduga, maka untuk menghilangkan keragu-raguan maka dilakukan tahap selanjutnya “uji penegas (*confirmative test*)”

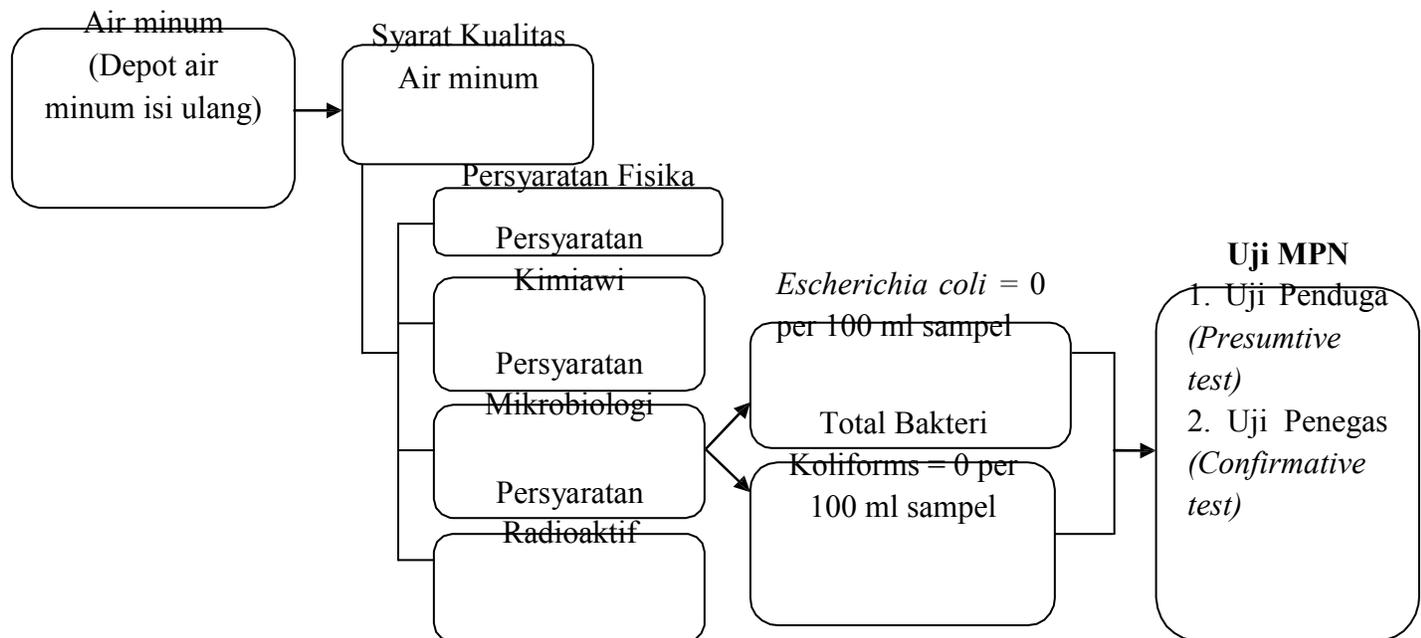
##### 2. Uji Penegas (*Confirmative test*)

Tes ini dilakukan dengan menggunakan medium *Brilliant Green Lactose Bile Broth*, dimana medium tersebut berguna untuk menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan meningkatkan pertumbuhan bakteri *coliforms*. Tes ini dilakukan seperti tahap uji penduga sebelumnya, dimana hasil positif pada uji penduga diambil sampelnya dan diinokulasikan pada 2 tabung yang berisi medium *Brilliant Green Lactose Bile Broth* dengan menggunakan ose. Kemudian tabung pertama dimasukkan ke dalam

inkubator selama 48 jam pada temperatur 37°C dan tabung yang kedua pada temperatur 44 °C. Jika setelah 48 jam pada sampel terbentuk gas, maka tes ini dikatakan positif.

Berdasarkan tahap-tahap diatas, Uji MPN ini sangat mudah penerapannya dan dapat diandalkan karena hanya memerlukan dasar pelatihan mikrobiologi. Selain itu Uji MPN ini juga relatif ekonomis karena hanya membutuhkan peralatan laboratorium yang sederhana dalam pengujiannya terhadap air yang terkontaminasi bakteri *coliform*. Namun metode ini membutuhkan waktu yang lama dalam hasil uji penduga dan uji penegasnya yaitu 48 jam.

## 2.5. Kerangka Teori



Gambar 2.2. Kerangka Teori

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Desain Penelitian**

Jenis desain penelitian ini adalah deskriptif observasional.

#### **3.2. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.2.1. Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di Kecamatan Medan Amplas dan pemeriksaan sampel penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommesen Medan.

##### **3.2.2. Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan November - Desember 2015.

#### **3.3. Populasi Penelitian**

##### **3.3.1. Populasi Target**

Seluruh air minum isi ulang dalam galon yang dijual di depot air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas.

##### **3.3.2. Populasi Terjangkau**

Populasi terjangkau pada penelitian ini adalah air minum isi ulang yang dikemas dalam galon yang dijual di seluruh depot air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas.

#### **3.4. Sampel dan Cara Pemilihan Sampel**

Pengambilan sampel dilakukan secara *purposive sampling* dengan cara mengambil sampel air minum isi ulang dengan menggunakan galon per depot sesuai dengan besar sampel yang akan diteliti air minum isi ulangnya di Kecamatan Medan Amplas

### 3.4.1. Estimasi Besar Sampel

Penelitian ini menggunakan rumus deskriptif kategorik :

$$\frac{Z\alpha}{2} \sqrt{\frac{P(1-P)}{n}}$$

#### Keterangan :

$Z\alpha$  = Simpangan baku alfa

P = Proporsi

Q = 1-P

d = presisi

(Sampel air minum isi ulang diambil dari 1 galon per depot dan jumlah depot adalah 11 depot)

### 3.5. Kriteria Inklusi dan Eksklusi

#### 3.5.1. Kriteria inklusi

Semua air minum isi ulang yang dijual di seluruh depot air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas.

#### 3.5.2. Kriteria Eksklusi

Setiap air minum isi ulang yang telah dikemas dalam galon namun penutupnya terbuka atau tidak tertutup sempurna.

### 3.6. Alat dan bahan

#### 3.6.1. Alat

Alat yang digunakan:

- a. Tabung reaksi
- b. Tabung durham
- c. Pipet ukur
- d. Lampu spiritus
- e. Inkubator
- f. Ose

#### 3.6.2. Bahan

Bahan yang digunakan

- a. Sampel air minum isi ulang
- b. Medium *Lactose Broth* (LB)
- c. Medium *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB)

### 3.7. Cara kerja :

- 1) Pengambilan sampel air minum isi ulang di depot air minum isi ulang di Kecamatan Medan Amplas. Sampel yang diambil adalah air minum isi ulang dengan menggunakan botol yang telah dicuci bersih oleh pemilik depot air minum isi ulang tersebut.
- 2) Melakukan Uji Penduga (*Presumptive test*)
  - Sediakan satu seri tabung dengan seri 5-1-1 (5 x 10 ml, 1 x 1 ml, 1 x 0,1 ml) yang mengandung media berisi *Lactose Broth* 10 ml sebagai indikator
  - Masukkan sampel air yang akan diperiksa lima tabung 10 ml, satu tabung 1 ml, dan satu tabung 0,1 ml.
  - Simpan tabung dalam inkubator selama 48 jam pada temperatur 37°C.

- Hasil fermentasi positif jika terjadi fermentasi laktosa oleh bakteri *coliform* pada sampel, sehingga terbentuk gas yang dapat dilihat berupa rongga kosong pada bagian atas tabung.
  - Bila *presumptive test* positif, lakukan uji berikutnya yaitu MPN *confirmative test*.
- 3) Uji Penegas (*Confirmative test*)
- Tabung yang positif pada *presumptive test* diambil sampelnya dan diinokulasi pada tabung berisi *Brilliant Green Lactose Bile Broth* 10 ml. Inokulasi dilakukan dengan menggunakan ose.
  - Tabung dimasukkan dalam inkubator selama 48 jam pada temperatur 37°C.
  - Jika terbentuk gas pada beberapa tabung media BGLBB, maka dapat disesuaikan dengan tabel 3.1. indeks MPN 5-1-1 sesuai dengan angka jumlah tabung yang positif.<sup>15</sup>
- 4) Membaca tabel dan mencatat hasil uji MPN
- Nilai MPN untuk berbagai kombinasi positif dan negatif, tertera pada tabel (3.1.). Tabel 3.1. menggambarkan nilai-nilai MPN untuk kombinasi hasil positif dan negatif lima tabung volume 10 ml, satu tabung volume 1,0 ml, dan satu tabung volume 0,1 ml pada sampel yang diuji. Hasil pembacaan positif pada masing - masing sediaan tabung dilaporkan dalam bentuk nilai MPN seperti tertera pada tabel (3.1.). Contoh : hasil yang dikodekan sebagai 5-1-1, mewakili tes *confirmative*. Berdasarkan tabel 3.1. ditunjukkan bahwa hasil kode dari 5-1-1 (5 x 10 ml positif, 1 x 1 ml positif, dan 1 x 0,1 ml positif ) memberikan nilai MPN 120, yang artinya dalam 100 ml sampel air terdapat 120 bakteri *coliform*.<sup>14</sup>

Tabel 3.1. Indeks MPN (10 mL, 1 mL, 0,1 mL)<sup>14</sup>

Volume			MPN/100 ml
10 ml	1 ml	0,1 ml	
0	0	1	2
0	1	0	2
0	1	1	2,2
1	0	0	4
1	0	1	4,4
1	1	0	4,4
1	1	1	5
2	0	0	6,7
2	0	1	7,5
2	1	0	7,6
2	1	1	8,8
3	0	0	10
3	0	1	12
3	1	0	12
3	1	1	15
4	0	0	16
4	0	1	20
4	1	0	21
4	1	1	27
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	1	120

Sumber: *American Public Health Association. Standard Methods  
9221 B Standard Total Coliform Fermentation Technique*

**Kategori Penilaian MPN**

- *Conformity* : 0 cfu/100ml
- *Low risk* : 1-10 cfu/100ml
- *Intermmediate risk* : 10-100 cfu/100ml
- *High riks* : 100-1000 cfu/100ml

**3.8. Pengolahan dan Analisa data**

Data akan diolah dengan menggunakan perangkat lunak komputer dan data disajikan dalam bentuk tabel dan mencatat hasil.