KIMIA PADJADJARAN
Desember 2024
Vol. 3 No. 1: 8-14
ISSN 3026-1619

Analisis Kualitatif Bakteri Koliform pada Air Kemasan dengan Metode *Most Probable Number*

Fajriana Shafira Nurrusyda[1,*], Khiftul Mawalia[2], Shela Amelia Hasriani[2], Ali Ridho Shahab[2], Clara Junita Tambunan[2], Mulydayana Reanifah Budiman[2], Winni Suryani Harahap[2], Khaeriska Rahayu Gobel[2], Safri Ishmayana[2], Husain Akbar Sumeru[1]

[1]Departemen Ilmu Terapan, Sekolah Vokasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung Sumedang km. 21, Jatinangor, Sumedang, 45363, Jawa Barat, Indonesia
[2]Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung Sumedang km. 21, Jatinangor, Sumedang, 45363, Jawa Barat, Indonesia
*Alamat email penulis koresponden: fajriana@unpad.ac.id

Abstrak

Air merupakan sumber daya utama bagi kehidupan manusia yang digunakan untuk konsumsi, rumah tangga, dan industri. Kualitas mikrobiologis air minum perlu diawasi karena keberadaan bakteri indikator koliform mencerminkan kontaminasi fekal dan risiko penyakit. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 2 Tahun 2023, air minum yang aman tidak boleh mengandung bakteri koliform dalam 100 mL sampel. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keberadaan *Escherichia coli* pada air minum isi ulang menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN), yaitu metode estimasi jumlah bakteri secara statistik berdasarkan jumlah tabung positif pada seri pengenceran tertentu. Uji dilakukan melalui dua tahap yaitu uji penduga untuk mendeteksi keberadaan bakteri koliform melalui pembentukan gas akibat fermentasi laktosa, dan uji konfirmasi untuk memastikan keberadaan *E. coli* pada media diferensial. Hasil uji penduga menunjukkan adanya gas pada satu tabung LB 2X (10 mL) dan satu tabung LB 1X (1 mL), sedangkan pada tabung LB 1X (0,1 mL) tidak terbentuk gas. Kombinasi hasil 1–1–0 menunjukkan estimasi MPN sebesar 3 bakteri/100 mL, yang termasuk kontaminasi rendah. Pada uji konfirmasi, koloni dengan warna ungu kehitaman dan kilau logam hijau pada media EMB teridentifikasi sebagai *E. coli*. Dengan demikian, sampel air minum isi ulang mengandung *E. coli* dan tidak memenuhi syarat sebagai air minum layak konsumsi.

Kata kunci: air, *Most Probable Number,* koliform, *E. coli*

PENDAHULUAN

Air merupakan salah satu komponen terpenting bagi kehidupan manusia yang digunakan dalam berbagai keperluan, mulai dari keperluan rumah tangga, fasilitas umum, hingga aktivitas industri. Kualitas air yang baik sangat penting untuk menjaga kesehatan masyarakat, karena air yang terkontaminasi mikroorganisme patogen dapat menjadi media penularan berbagai penyakit (Kekes *et al*., 2023). Saat ini, ketersediaan air bersih mengalami penurunan signifikan, bahkan dunia dihadapkan pada krisis air bersih akibat pencemaran dan pertumbuhan populasi yang cepat (Musie & Gonfa, 2023). Oleh karena itu, ketersediaan air minum yang aman dan berkualitas menjadi sangat penting untuk memenuhi kebutuhan masyarakat.

Di Indonesia, air minum isi ulang semakin populer karena dianggap ekonomis dan praktis. Namun, banyak depot air isi ulang yang tidak memenuhi standar sanitasi,

sehingga meningkatkan risiko kontaminasi mikroba patogen, termasuk bakteri indikator fekal (Puspita *et al*., 2023). Menurut Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023, air minum yang aman tidak boleh mengandung bakteri koliform dalam 100 ml sampel. menegaskan pentingnya pengujian mikrobiologis untuk memastikan keamanan air konsumsi (Peraturan Menteri Kesehatan, 2023). Bakteri koliform digunakan sebagai indikator utama untuk mendeteksi kontaminasi fekal karena keberadaannya mengindikasikan kemungkinan adanya patogen enterik yang berbahaya bagi kesehatan manusia (Wen *et al*., 2020)

Bakteri koliform adalah kelompok bakteri Gram-negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, dan bersifat anaerob fakultatif, dan mampu memfermentasi laktosa menjadi asam dan gas pada suhu 35–37°C dalam waktu 24–48 jam (Erkmen, 2021). Bakteri ini dapat ditemukan di berbagai lingkungan, seperti tanah, air permukaan, dan tumbuhan, tetapi kehadirannya dalam air minum sering dikaitkan dengan pencemaran fekal. Bakteri koliform terbagi menjadi koliform total dan koliform fekal, dengan *Escherichia coli* sebagai indikator spesifik kontaminasi fekal. Kehadiran *E. coli* dalam air minum menunjukkan kontaminasi fekal yang signifikan, sering kali akibat sanitasi yang buruk, kebocoran pipa, atau pengolahan air yang tidak memadai (Shen & Zhang, 2021; Chandrapati & Williams, 2014).

Dalam mendeteksi keberadaan bakteri koliform dan *E. coli*, metode *Most Probable Number* (MPN) seringkali digunakan karena kemampuannya memberikan estimasi kuantitatif dan kualitatif jumlah bakteri berdasarkan pendekatan statistik (Agustina dkk., 2024). Metode ini terdiri dari tiga tahap: uji penduga, uji konfirmasi, dan uji pelengkap, yang mengkombinasikan media kultur selektif dan identifikasi biokimia untuk memastikan keberadaan dan jumlah bakteri indikator. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri koliform dan *E. coli* dalam sampel air isi ulang yang berasal dari salah satu depot di Jatinangor, Indonesia. Hasil penelitian diharapkan dapat meningkatkan kesadaran masyarakat akan pentingnya pengelolaan sanitasi air minum untuk mencegah penyakit yang ditularkan melalui air.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain bunsen, mikropipet, tabung reaksi, tabung Durham, batang oose, *autoclave*, incubator, labu Erlenmeyer. Bahan yang digunakan antara lain media Lactose Broth (LB) Merck, media Eosin Methylene Blue (EMB) agar Merck, aquadest, kapas, kassa cawan petri *dispossable*.

Persiapan Media

Persiapan media untuk uji penduga dilakukan dengan melarutkan 13 g media LB kedalam 100 mL aquadest untuk media (LB-1X) dan 26 g media LB kedalam 100 mL aquadest (LB-2X). Masing-masing larutan media kemudian dimasukan sebanyak 10 mL kedalam tabung reaksi yang telah diisi tabung Durham dalam posisi terbalik. Sementara itu, persiapan media untuk uji konfirmasi dilakukan dengan melarutkan 36 g EMB agar

kedalam 100 mL aquadest. Seluruh media yang telah dibuat kemudian disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121ºC selama 15 menit. Media EMB agar didiamkan hingga suhu 40-45ºC sebelum dilakukan platting pada cawan petri.

Uji Penduga (*Presumptive Test*)

Pengujian dilakukan dengan menggunakan media LB yang telah disiapkan dalam dua konsentrasi: LB ganda (2X) dan LB tunggal (1X), masing-masing dengan volume 10 mL per tabung. Total terdapat tiga kelompok perlakuan dengan satu seri pengenceran, sebagai berikut:

- Lima tabung LB 2X masing-masing diinokulasi dengan 10 mL sampel air minum isi ulang.
- Lima tabung LB 1X masing-masing diinokulasi dengan 1 mL sampel air minum isi ulang.
- Lima tabung LB 1X masing-masing diinokulasi dengan 0,1 mL sampel air minum isi ulang.

Setelah inokulasi, seluruh tabung diinkubasi pada suhu 35–37°C selama 24–48 jam. Tabung yang menunjukkan pembentukan gas pada tabung Durham setelah 24 jam inkubasi dinyatakan positif, yang mengindikasikan adanya bakteri koliform. Pengamatan dilakukan pada semua tabung setelah 24 jam dan diulang kembali pada 48 jam untuk memastikan hasil akhir.

Uji Konfirmasi (*Confirmation Test*)

Cawan petri yang berisi media EMB dinokulasikan menggunakan metode gores (streak) dengan kultur yang berasal dari tabung broth laktosa positif hasil uji penduga. Seluruh cawan petri kemudian diinkubasi dalam posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah periode inkubasi selesai, permukaan media diamati untuk melihat pertumbuhan koloni. Hasil dinyatakan sebagai uji konfirmasi positif apabila ditemukan koloni dengan karakteristik pertumbuhan *E. coli* dalam media EMB, yaitu koloni berwarna hijau metalik. Sebaliknya, jika tidak ditemukan koloni dengan karakteristik koloni *E. coli*, maka hasil dinyatakan sebagai uji konfirmasi negatif, yang mengindikasikan bahwa sampel air tidak terkontaminasi secara fekal dan layak untuk dikonsumsi.

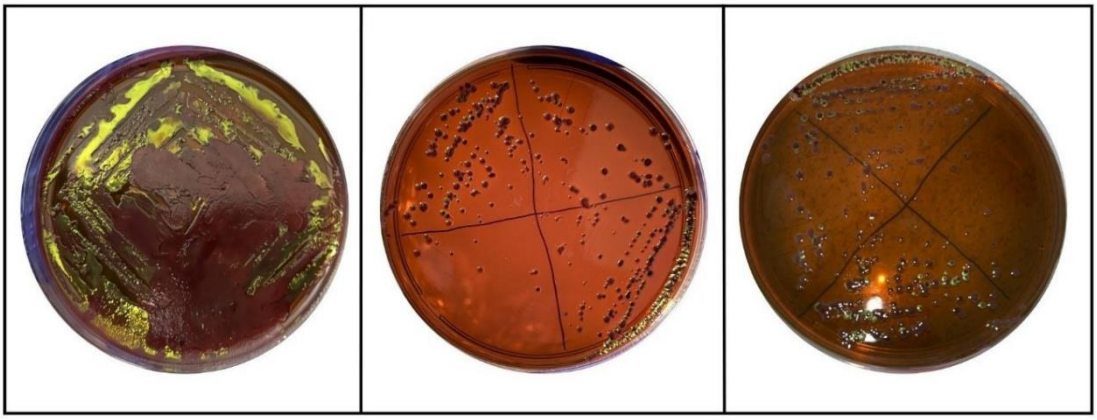
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas mikrobiologis air merupakan parameter penting dalam menentukan kelayakan air untuk dikonsumsi. Oleh karena itu, diperlukan prosedur pengujian yang tepat untuk mendeteksi kontaminasi mikrobiologis pada sampel air secara kuantitatif dan kualitatif. Metode yang umum digunakan untuk mendeteksi keberadaan bakteri koliform dan *E. coli* adalah *Most Probable Number (MPN)*, yaitu metode statistik berbasis serial pengenceran dan inokulasi sampel ke dalam media diferensial selektif. Media yang

digunakan dalam pengujian dirancang untuk mendukung pertumbuhan bakteri indikator dan mempermudah identifikasi (Chandrapati & Williams, 2014).

Dalam pengujian dengan metode MPN, tahap pertama yang dilakukan adalah uji penduga. Uji penduga bertujuan untuk mendeteksi dugaan adanya bakteri koliform dalam sampel air. Prinsip utama dari uji ini adalah mengukur kemampuan bakteri koliform untuk memfermentasi laktosa menjadi asam dan gas dalam media cair selektif pada kondisi tertentu. Jika dalam waktu inkubasi teramati adanya kekeruhan pada media (pertumbuhan bakteri) serta pembentukan gas, maka tabung dianggap positif terhadap adanya bakteri koliform dalam sampel air (Cappuccino & Welsh, 2018). Hasil pengujian menunjukkan bahwa masing-masing satu tabung menunjukkan hasil positif (terbentuk gas) pada volume sampel 10 mL dan 1 mL, sedangkan pada volume 0,1 mL tidak teramati adanya gas yang terbentuk, sehingga kombinasi hasil yang diperoleh adalah 1–1–0. Berdasarkan tabel standar MPN, kombinasi ini mengindikasikan estimasi jumlah bakteri sebesar 3 MPN/100 mL, yang menunjukkan adanya kontaminasi bakteri koliform meskipun dalam jumlah yang relatif rendah. Hasil uji penduga masih perlu konfirmasi lebih lanjut pada tahap uji konfirmasi dengan media padat selektif untuk memastikan keberadaan koliform atau *E. coli* secara spesifik (Mishra *et al.,* 2018).

Tahap selanjutnya adalah uji konfirmasi yang bertujuan untuk memverifikasi bahwa gas yang terbentuk pada uji penduga memang dihasilkan oleh bakteri koliform fekal, khususnya *E. coli*. Kultur positif dari uji penduga diinokulasikan pada media EMB agar menggunakan teknik gores (streak plate), kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media EMB yang digunakan merupakan media selektif-diferensial yang dirancang untuk mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri fermenter laktosa, khususnya *E. coli*. Ketika *E. coli* tumbuh pada media EMB, bakteri ini memfermentasi laktosa secara intensif sehingga menghasilkan asam dalam jumlah besar (Ananda & Achmadi, 2024). Produksi asam yang tinggi menurunkan pH lokal di sekitar koloni, sehingga menyebabkan pengendapan zat pewarna eosin dan methylene blue yang terkandung dalam medium (Cahyaningtyas dkk., 2024). Dalam penelitian ini, setelah dilakukan inkubasi sampel, pada permukaan EMB tampak pertumbuhan koloni berwarna ungu kehitaman dengan kilau logam hijau (*green metallic sheen*), yang merupakan ciri khas *E. coli* seperti pada Gambar 1. Kehadiran koloni dengan morfologi khas tersebut menunjukkan hasil positif pada uji konfirmasi, yang mengindikasikan bahwa sampel air tidak hanya mengandung koliform, tetapi juga secara spesifik telah terkontaminasi oleh *E. coli*.



Gambar 1. Hasil uji konfirmasi pada media EMB

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampel air minum isi ulang yang diuji memiliki jumlah bakteri sebesar 3 MPN/100 mL dengan hasil uji konfirmasi positif terhadap *E. coli*. Temuan ini tidak memenuhi ketentuan yang tercantum dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum, yang menetapkan bahwa air minum tidak boleh mengandung bakteri koliform maupun *E. coli* dalam 100 mL sampel. Keberadaan *E. coli* pada sampel air merupakan indikator pencemaran fekal yang menunjukkan bahwa air tersebut tidak layak dikonsumsi karena berpotensi menularkan penyakit berbasis air seperti diare, kolera, atau demam tifoid (Odonkor & Mahami, 2020).

Hasil positif terhadap *E. coli* pada sampel air minum isi ulang dalam penelitian ini diduga berasal dari sanitasi yang buruk pada fasilitas depot air minum. Potensi sumber kontaminasi dapat berasal dari penggunaan peralatan yang tidak higienis, pencucian galon yang tidak efektif, kondisi ruangan yang lembap dan kotor, atau kualitas air baku yang sudah tercemar sebelum proses pengolahan (Santoso, 2024). Selain itu, depot yang tidak melakukan desinfeksi secara rutin terhadap tangki penyimpanan, selang, dan keran juga dapat menyebabkan terbentuknya biofilm yang menjadi tempat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Praktik pencucian galon dengan air yang tidak bersih atau tanpa deterjen dan desinfektan juga memperbesar risiko kontaminasi ulang sebelum pengisian ulang gallon (Yushananta dkk., 2022). Hal ini sejalan dengan temuan studi sebelumnya yang melaporkan bahwa depot dengan sanitasi yang tidak sesuai standar cenderung menghasilkan air minum dengan kualitas mikrobiologis yang buruk dan melebihi baku mutu yang ditetapkan (Aru dkk., 2025). Oleh karena itu, hasil penelitian ini menegaskan perlunya peningkatan pengawasan sanitasi dan perbaikan prosedur pengolahan air pada depot air minum yang bersangkutan agar memenuhi standar kualitas air minum yang aman bagi kesehatan masyarakat.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sampel air minum isi ulang yang diuji mengandung bakteri bakteri dengan estimasi jumlah 3 MPN/100 mL, serta terkonfirmasi

positif mengandung *E. coli* berdasarkan uji konfirmasi pada media EMB. Keberadaan E. coli sebagai indikator pencemaran fekal menunjukkan bahwa kualitas mikrobiologis sampel tidak memenuhi standar baku mutu yang ditetapkan dalam Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 2 Tahun 2023 tentang Persyaratan Kualitas Air Minum, sehingga air tersebut tidak layak untuk dikonsumsi. Temuan ini mengindikasikan adanya praktik sanitasi yang tidak memadai pada depot air minum, yang memungkinkan terjadinya kontaminasi dari lingkungan, peralatan, atau air baku. Oleh karena itu, perbaikan prosedur sanitasi dan pengawasan kualitas secara berkala sangat diperlukan untuk memastikan air yang dihasilkan aman bagi kesehatan masyarakat.

DAFTAR PUSTAKA

Agustina, N., Nugraheni, I.A. & Naim, A. 2024. Analisis kualitas mikrobiologis air sungai melalui deteksi total coliform dan *Escherichia coli* menggunakan metode most probable number (MPN). *Prosiding Seminar Nasional Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, LPPM Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta.* Yogyakarta, 28 September 2024. 2: 1521-1534.

Ananda, R.D. & Achmadi, D.R.W. 2024. Analisis cemaran bakteri coliform pada es batu di pasar tradisional. *Biopendix*. 10(2): 194–201.

Aru, E., Mokosuli, Y.S. & Lawalata, H.J. 2025. Analisis mikrobiologis air minum isi ulang di Kabupaten Minahasa: Studi kasus kontaminasi bakteri coliform di Tataaran Patar. *Jurnal Pengabdian Masyarakat dan Riset Pendidikan*. 3(4): 3458–3466.

Cahyaningtyas, M., Yuliani, L. & Prasetya, D. 2024. Identifikasi *E. coli* pada makanan menggunakan agar EMB: studi karakteristik koloni hijau metalik. *Jurnal Ilmu Kehidupan*. 7(4): 112–120.

Cappuccino, J.G. & Welsh, C.T. 2018. *Microbiology: A Laboratory Manual (K. Churchman (ed.).* Pearson. Harlow.

Chandrapati, S. & Williams, M.G. 2014. Total viable counts: Most Probable Number (MPN). In: C.A. Batt & M.L. Tortorello, eds. *Encyclopedia of Food Microbiology*. 2nd ed. Academic Press. London. pp. 621–624.

Erkmen, O. 2021. *Microbiological Analysis of Foods and Food Processing Environments*. Academic Press. London.

Kekes, T., Tzia, C. & Kolliopoulos, G. 2023. Drinking and natural mineral water: treatment and quality–safety assurance. *Water*. 15(13): 2325.

Mishra, M., Arukha, A.P., Patel, A.K, Behera N., Mohanta, T.K. & Yadav, D. 2018. Multi-drug resistant coliform: Water sanitary standards and health hazards. *Frontiers in Pharmacology*. 12(9): 311.

Musie, W. & Gonfa, G. 2023. Fresh water resource, scarcity, water salinity challenges and possible remedies: A review. *Heliyon*. 9(8): 18685.

Odonkor, S.T. & Mahami, T. 2020. *Escherichia coli* as a tool for disease risk assessment of drinking water sources. *International Journal of Microbiology*. 15: 2534130

Peraturan Menteri Kesehatan (2023) Permenkes No. 2 Tahun 2023. [online] Available at: https://peraturan.bpk.go.id/Details/245563/permen [Accessed 8 Jul. 2025].

Puspita, T., Dharmayanti, I., Tjandrarini, D.H., Zahra, Z., Anwar, A., Irianto, J., Rachmat, B. & Yunianto, A. 2023. Packaged drinking water in Indonesia: The determinants of household in the selection and management process. *Journal of Water, Sanitation and Hygiene for Development*. 13(7): 508-519.

Santoso, T. (2024). Faktor-faktor higiene sanitasi dengan kontaminasi bakteri colifom pada depot air minum isi ulang di kelurahan Pematang Kandis tahun 2024. *Jurnal Kesehatan dan Sains Terapan*. 10(2): 33-48.

Shen, C. & Zhang, Y. 2021. *Introductory Microbiology Lab Skills and Techniques in Food Science*. Academic Press. London.

Wen, X., Chen, F., Lin, Y., Zhu, H., Yuan, F., Kuang, D., Jia, Z. & Yuan, Z. 2020. Microbial indicators and their use for monitoring drinking water quality—A review. *Sustainability*. 12(6): 2249.

Yushananta, P., Markus, M., & Barus, L. (2022). Kualitas mikrobiologi dan pengolahan air minum isi ulang di wilayah kecamatan Metro Pusat, Kota Metro. *Ruwa Jurai: Jurnal Kesehatan Lingkungan*. 16(3): 138-145.