

## **SCREENING BAKTERI COLIFORM PADA AIR MINUM ISI ULANG DI DAMIU, KEC. UMBULHARJO YOGYAKARTA**

**MR Mailissa<sup>1</sup>, TY Budiarmo<sup>1\*</sup>, C Amarantini<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi, Universitas Kristen Duta Wacana. Jl. Dr. Wahidin Sudirohusodo No. 5-25, Yogyakarta 55224, Yogyakarta, Indonesia. Tel./fax.: +62-274-563929

\*Email: [yahya@syudents.ukdw.ac.id](mailto:yahya@syudents.ukdw.ac.id)

### **ABSTRAK**

DAMIU merupakan penyedia air minum isi ulang yang menjadi pilihan banyak orang dikarenakan oleh harga yang sangat terjangkau. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk melakukan deteksi awal dari bakteri Coliform dalam air minum isi ulang DAMIU di daerah Kec. Umbulharjo, Yogyakarta. Sampel diambil dari 10 DAMIU yang berbeda di daerah Kec. Umbulharjo, Yogyakarta. Kemudian sebanyak 10 sampel ditumbuhkan ke dalam media selektif CCA untuk menumbuhkan bakteri terduga Coliform. Koloni bakteri Coliform akan tumbuh dengan warna merah dan koloni bakteri non-Coliform akan tumbuh dengan warna putih yang kemudian ditumbuhkan pada media SSA untuk menumbuhkan bakteri terduga Salmonella/Shigella. Sebanyak 49 isolat tunggal diperoleh dari proses pemurnian tersebut yang kemudian dianalisa secara morfologi dengan gram-staining, dan dilakukan 8 uji biokimia yaitu IMViC, TSIA, Urea, Laktosa dan Sorbitol. Berdasarkan hasil Analisa, terdapat beberapa dugaan bakteri yaitu *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter intermedius*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella pneumoniae subs. Rhinoscleromatis*, *Serratia marscescens*, *Serratia entomophila*, *Serratia ficaria*, *Serratia odorifera* biogroup 1 & 2, *Serratia plymuthica*.

**Kata kunci:** Air minum isi ulang, Enterobacteriaceae, Coliformi, Umbulharjo.

### **PENDAHULUAN**

Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) merupakan usaha yang melakukan pengolahan air baku menjadi air minum. Proses pengolahan dilakukan dengan menggunakan *filter* dan juga lampu UV. Depot ini menjadi alternatif bagi masyarakat dikarenakan oleh harga dari AMDK yang lumayan tinggi, sehingga masyarakat lebih memilih DAMIU karena memiliki harga yang jauh lebih terjangkau. DAMIU (Tarelluan dkk., 2016). Pada penelitian yang dilakukan oleh Wandrivel dkk. (2012) dan Rahayu dkk. (2017) ditemukan bahwa dalam beberapa sampel air minum dari depot pengisian air ulang di Kec. Bungus, Padang dan Margahayu Raya, Bandung tidak memenuhi standar baku mutu air minum yang telah ditetapkan oleh Menteri Kesehatan Republik Indonesia dikarenakan telah terkontaminasi dengan bakteri *Coliform*. Konsumsi air minum yang telah terkontaminasi dengan bakteri tersebut dapat menimbulkan diare (Luby dkk., 2015).

Penelitian mengenai kualitas air minum dari DAMIU di Yogyakarta masih belum banyak dilakukan, terutama di daerah Kec. Umbulharjo yang memiliki angka penderita diare tertinggi di Yogyakarta. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan deteksi awal terhadap kehadiran bakteri *Coliform* di dalam air minum isi ulang dari DAMIU sekitar Kec. Umbulharjo, Yogyakarta.

## METODE

### Pengambilan Sampel

Sampel yang diambil berasal dari 10 DAMIU yang dipilih secara acak di daerah Kec. Umbulharjo, Yogyakarta. Pengambilan sampel dilakukan menggunakan wadah yang telah disterilkan, dan proses pengambilan dilakukan langsung oleh karyawan DAMIU tersebut yang kemudian ditutup dengan rapat dan menggunakan *plastic wrap* lalu dibawa ke Laboratorium Industri Universitas Kristen Duta Wacana dan diberi label S1 hingga S10.

### Seleksi bakteri *coliform* pada media selektif

Sampel yang telah dikumpulkan kemudian diinokulasikan ke dalam media selektif CCA dengan menggunakan metode *pour plate* dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 24-48 jam. Koloni terduga bakteri *coliform* akan tumbuh dengan warna merah, dan koloni yang tumbuh dengan warna putih terduga sebagai bakteri non *coliform*, namun bakteri *enterobacteriaceae* (Finney, dkk, 2003).

Kemudian koloni putih pada CCA diinokulasikan ke dalam media selektif SSA dan diinokulasikan selama 24-48 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh dengan warna pink adalah terduga bakteri *coliform*, koloni yang berwarna hitam diduga adalah bakteri *Salmonella*, koloni berwarna putih diduga adalah bakteri *Shigella* dan koloni merah diduga adalah bakteri *coliform* (Rahmiati, 2016).

### Uji Biokimia

Setelah dilakukan pemurnian bakteri dari sampel pada media CCA dan SSA, kemudian setiap isolat dilanjutkan ke dalam uji biokimia yaitu Indole, MR, VP, *Citrate*, TSIA, Urea, D-Sorbiol, dan Laktosa.

#### 1. Uji *Indole*

Uji ini dilakukan dengan melakukan inokulasi isolat ke dalam tabung reaksi berisi media *Indole* menggunakan jarum ose dengan steril, kemudian diinkubasikan selama 24-48 jam dalam suhu 37°C. Setelah diinkubasikan, diteteskan reagen Kovac secara perlahan melalui dinding tabung reaksi sampai muncul garis pemisah media dan reagen. Uji positif akan ditandai dengan pembentukan cincin warna merah pada garis pemisah (Ulfa dkk., 2016).

#### 2. Uji *Methyl Red* dan *Voges Proskauer*

Uji ini dilakukan dengan melakukan isolasi isolat dengan menggunakan jarum ose ke dalam media MR-VP dengan steril, lalu diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Setelah itu media pada tiap tabung reaksi dibagi menjadi 2 untuk melakukan uji MR-VP. Uji MR dilakukan dengan meneteskan *methyl red indicator* sebanyak 5 tetes, hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah. Untuk uji VP ditambahkan 10 tetes reagen Barrit's A lalu media dihomogenisasikan dan kemudian ditambahkan lagi 10 tetes reagen Barrit's B, hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna merah yang muncul pada bagian atas media (Cappucino, 2018).

### 3. Uji *Simmon's Citrate*

Uji ini dilakukan dengan melakukan isolasi isolat menggunakan jarum ose ke dalam media *Simmon's Citrate* dengan cara digores secara zig zag pada permukaan medium, setelah itu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif akan ditandai dengan perubahan warna medium dari warna hijau menjadi warna biru (Antriana, 2014).

### 4. Uji TSIA

Uji ini dilakukan dengan melakukan inokulasi isolat ke dalam media TSIA secara aseptis dengan menggunakan ose tusuk pada bagian dasar media, dan menggunakan ose *loop* pada bagian slant/miring dari media. Setelah itu, diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 31°C. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gas yang ditandai dengan pecahnya media (Cappucino, 2018).

### 5. Uji Urea

Uji ini dilakukan dengan melakukan inokulasi isolat ke dalam media *urea broth* dengan menggunakan ose *loop* secara aseptis kemudian diinkubasi pada suhu 31°C selama 24-48 jam. Hasil positif ditandai dengan terjadi perubahan warna media menjadi merah (Cappucino, 2018).

### 6. Uji D-Sorbitol

Uji ini dilakukan dengan melakukan isolasi isolat menggunakan jarum ose ke dalam media D-Sorbitol lalu diinkubasikan dalam suhu 37°C selama 24-48 jam. Hasil positif akan ditandai dengan perubahan medium menjadi kuning (Cappucino, 2018).

### 7. Uji Laktosa

Uji ini dilakukan dengan melakukan isolasi isolat menggunakan jarum ose ke dalam media Laktosa lalu diinkubasikan dalam suhu 37°C selama 24-48 jam. Hasil positif akan ditandai dengan perubahan media menjadi kuning (Cappucino, 2018).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Seleksi bakteri dengan menggunakan media selektif SSA dan CCA dapat dilihat pada Tabel 1., dari 10 sampel DAMIU diperoleh 41 isolat yang terdiri dari 16 isolat koloni merah salmon (SM), 10 koloni merah gelap (MG), dan 15 isolat koloni putih (P) isolat dengan tipe koloni SM dan MG diperoleh dari media CCA, sedangkan tipe koloni putih diperoleh dari koloni putih dari media CCA yang kemudian diinkubasikan ke dalam media selektif SSA.

CCA (*Coliform Chromocult Agar*) adalah media yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri *coliform*, terutama *Escherichia coli*. CCA mengandung dua substrat kromogenik yaitu Salmon-GAL dan X-glucronide. Koloni bakteri *coliform* akan tumbuh dengan warna merah salmon disebabkan oleh enzim  $\beta$ -Galactosidase yang mendegradasi Salmon-GAL dan menghasilkan senyawa kromogenik merah salmon. *E. coli* akan tumbuh dengan warna biru tua disebabkan oleh kedua enzim tersebut sehingga dapat mendegradasi kedua substrat dan akan menghasilkan senyawa kromogenik yang berwarna biru tua. Bakteri yang *Enterobacteriaceae* non-coliform akan

tumbuh dengan warna putih yang disebabkan oleh ketidakmampuan dalam memproduksi  $\beta$ -Galactosidase dan  $\beta$ -glucuronidase sehingga tidak terjadinya degradasi substrat dan tidak munculnya senyawa kromogenik menyebabkan bakteri Enterobacteriaceae tumbuh dengan warna putih (Finney dkk., 2003).

SSA (*Salmonella Shigella Agar*) adalah media selektif yang digunakan untuk identifikasi *Salmonella* dan *Shigella*. *Bile salts*, *brilliant green*, dan sodium dalam media ini akan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Media ini akan mendeteksi kemampuan dari bakteri gram negatif terutama *Salmonella*, *Shigella* dan bakteri *coliform* yang dapat memfermentasikan laktosa. Bakteri *coliform* akan tumbuh dengan warna kuning atau merah muda dikarenakan oleh produk senyawa asam yang dihasilkan oleh proses fermentasi laktosa tersebut, semakin tinggi senyawa asam yang dihasilkan maka koloni bakteri tersebut akan bertumbuh dengan warna merah muda, koloni bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 akan tumbuh dengan warna merah muda (Himedia, 2011).

**Tabel 1. Koloni *coliform* yang diperoleh dari tiap sampel DAMIU**

Sampel	Koloni Merah		Koloni Merah Gelap		Koloni Putih (P)	Kode Isolat
	Salmon (MS)	Kode Isolat	Gelap (MG)	Kode Isolat		
1	1	1MS1	-	-	-	-
2	1	2MS1	1	2MG1	2	2P1 2P2
3	3	3MS1 3MS2	3	3MG1 3MG2 3MG3	-	-
4	2	4MS1 4MS2	-	-	-	-
5	1	5MS1	1	5MG1	2	5P1 5P2
6	-	-	2	6MG1 6MG2	4	6P1 6P2 6P3 6P4
7	2	7MS1 7MS2	-	-	4	7P1 7P2 7P3 7P4
8	2	8MS1 8MS2	1	8MG1	0	- -
9	2	9MS1 9MS2	-	-	2	9P1 9P2
10	2	10MS1 10MS2	2	10MG1 10MG2	1	10P1

Koloni yang diperoleh dari proses pemurnian pada Tabel 1. kemudian diidentifikasi lebih lanjut dengan menggunakan uji biokimia. Uji biokimia yang digunakan pada penelitian ini adalah uji IMViC, Urease, Laktosa, dan Sorbitol. Hasil dari uji biokimia tiap isolat pada tiap uji kemudian dicatat dan dibandingkan dengan referensi. Berdasarkan hasil pada Tabel 2. teridentifikasi bakteri terduga *coliform* yaitu *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *E. gergoviae*, *E. hormaechei*, *E. intermedius*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. pneumoniae subs. Rhinoscleromatis*, *Serratia masrcescens*, *Serratia entomophila*, *Serratia ficaria*, *Serratia*

*odorifera* biogroup 1 & 2, *Serratia plymuthica*.

Hasil pada Tabel 2. menunjukkan adanya dugaan kontaminasi bakteri *coliform*, mengindikasikan kemungkinan air minum isi ulang dari DAMIU didaerah Kec. Umbulharjo, Yogyakarta tidak sesuai dengan standar baku mutu. Standar baku mutu yang telah ditetapkan oleh Menteri Kesehatan (2010) terutama pada bidang mikroorganisme adalah 0 CFU/100 mL. Kehadiran dari bakteri *coliform* berpotensi untuk menimbulkan berbagai penyakit terhadap konsumennya seperti infeksi usus, disentri, hepatitis, demam tifoid, dan kolera (Khan, 2013).

**Tabel 2. Hasil uji biokimia isolate *coliform* asal DAMIU**

Kode isolat	Indole	MR	VP	Sitrat	TSIA	Urease	Laktosa	Sorbitol	Bakteri terduga
1MS1	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subs. <i>Rhinoscleromatis</i> (62,5%)
2MS1	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>Enterobacter hormaechei</i> (100%)
2MG1	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter aerogenes</i> (100%)
2P1	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>Serratia entomophila</i> (87,5%)
2P2	-	-	-	+	-	-	-	-	
3MS1	-	-	-	+	-	+	-	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subs. <i>Rhinoscleromatis</i> (62,5%)
3MS2	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Klebsiella planticola</i> (100%)
3MG1	+	-	+	+	-	-	-	+	<i>Serratia marcescens</i> (100%)
3MG2	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Serratia odorifera</i> biogroup 1 & 2 (100%)
3MG3	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter aerogenes</i> (100%)
4MS1	+	-	+	+	-	-	-	+	<i>Serratia marcescens</i> (87,5%)
4MS2	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>Serratia entomophila</i> (100%)
5MS1	+	+	+	+	-	+	-	+	<i>Serratia odorifera</i> biogroup 2 (87,5%)
5MG1	+	+	-	+	-	-	+	+	<i>Serratia odorifera</i> biogroup 1 & 2 (87,5%)
5P1	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Klebsiella oxytoca</i> , ornithine positive (100%)

5P2	+	+	+	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>ornithine positive</i> (87,5%)
6MG1	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter</i> <i>aerogenes</i> (100%)
6MG2	-	+	+	+	-	+	+	+	<i>Klebsiella planticola</i> (100%)
6P1	-	+	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter</i> <i>intermedius</i> (100%); <i>Serratia plymuhica</i> (100%)
6P2	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>Serratia</i>
6P3	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>entomophila</i>
6P4	-	-	-	+	-	-	-	-	(87,5%);
7MS1	+	-	-	+	-	-	+	+	<i>Klebsiella Oxytoca</i> (75%); <i>Escherichia</i> <i>Coli</i> (75%)
7MS2	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>ornithine positive</i> (100%)
7P1	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>Serratia</i>
7P2	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>entomophila</i> (87,5%)
7P3	-	-	-	+	-	-	-	-	
7P4	-	+	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter</i> <i>intermedius</i> (100%); <i>Serratia plymuhica</i> (100%)
8MS1	+	+	+	+	-	-	-	+	<i>Serratia ficaria</i> (87,5%)
8MS2	+	-	+	+	-	-	-	+	<i>Serratia marcescens</i> (87,5%)
9MS1	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Enterobacter</i> <i>intermedius</i> (100%); <i>Serratia plymuhica</i> (100%)
9MS2	+	+	+	+	-	+	+	+	<i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>ornithine positive</i> (100%)
9P1	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>Serratia</i>
9P2	-	-	-	+	-	-	-	-	<i>entomophila</i> (87,5%)
10MS1	-	+	+	+	-	+	+	-	<i>Klebsiella panticola</i> (87,5%)
10MS2	-	-	+	+	-	+	+	-	<i>Enterobacter</i> <i>gergoviae</i> (100%)
10MG1	-	+	+	+	-	-	+	+	<i>Enterobacter</i> <i>intermedius</i> (100%); <i>Serratia plymuhica</i> (100%)
10MG2	+	-	+	+	-	-	+	+	<i>Serratina odorifera</i> <i>biogroup 1</i> (87,5 %)
10P1	-	-	-	+	-	+	+	-	<i>Enterobacter</i> <i>gergoviae</i> (87,5%)

Kontaminasi dari bakteri coliform ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor internal maupun eksternal. Faktor internal berupa sanitasi dari lingkungan DAMIU, kebersihan karyawan, dan juga kebersihan dari alat-alat yang digunakan. Sedangkan pada faktor eksternal adalah kualitas dari air yang digunakan sebagai bahan baku yang telah terkontaminasi oleh *coliform*, menurut hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Yogahfanny (2015), ditemukan bahwa sungai Winongo di Yogyakarta yang berkemungkinan adalah sumber air baku air minum isi ulang, telah terkontaminasi oleh *coliform*.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil identifikasi awal menggunakan uji biokimia ditemukan bakteri terduga yaitu *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter intermedius*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella planticola*, *Klebsiella pneumoniae subs. Rhinoscleromatis*, *Serratia masrcescens*, *Serratia entomophila*, *Serratia ficaria*, *Serratia odorifera biogroup 1 & 2*, *Serratia plymuthica* yang masuk kedalam bakteri *coliform* dan dapat menyebabkan penyakit diare. Sehingga perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut.

## DAFTAR PUSTAKA

- Cappucino, James G., Welsh, Chad, (2018), *Microbiology A Laboratory Manual*, 11<sup>th</sup> ed. Global edition, Pearson, Malaysia, pp. 163-227.
- Finney, M., Smullen, J., Foster, H. A., Brokx, S., & Storey, D. M. (2003). Evaluation of Chromocult Coliform Agar for the Detection and Enumeration of Enterobacteriaceae from faecal samples from healthy subjects, *Journal of Microbiological Methods*, Vol. 54(3), pp: 353-358.
- Himedia. Technical Data: SS Agar (Salmonella Shigella Agar). <https://himedialabs.com/TD/M108D.pdf>. Diakses 13 Agustus 2022, jam 22:09.
- Khan, Sardar; Shahnaz, Maria; Jehan, et al. (2013). Drinking Water Quality and Human Health Risk in Charsadda District, Pakistan, *Journal of Cleaner Prouction* Vol. 60(2013), pp: 93-101.
- Luby, Stephen P.; Halder, Amal K., dkk. (2015). Microbiological Contamination of Drinking Wattriser Associated with Subsequent Child Diarrhea, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* Vol. 93(5), pp: 904-911.
- Menteri Kesehatan Republik Indonesia. (2010). Peraturan Kesehatan Republik Indonesia, Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010 Tentang Persyaratan Kualitas Air Minum. Jakarta.
- Rahayu, Susi Afrianti; Gumilar, Muhammad Hidayat. (2017). Uji Cemarkan Air Minum Masyarakat Sekitar Margahayu Raya Bandung Dengan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli*, *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* Vol. 4(2), pp: 50-56.
- Rahmiati, (2016), Analisis Bakteri Salmonella-Shigella pada Kuah Sate Pedagang Kaki Lima, *BioLink* Vol. 3(1), pp: 31-36.
- Tarelluan, E. G., Sapulete, M. R., & Monintja, T. C. (2016). Gambaran Kualitas Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di Kelurahan Malalayang II, *Jurnal Kedokteran Komunitas Dan Tropik* Vol. 4(1), pp: 15-22.

- Ulfa, A., Suarsini, E., & al Muhdhar, M. H. I. (2016). Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: *Penelitian Pendahuluan. In Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Enviromental, and Learning* Vol. 13(1), pp. 793-799.
- Wandrivel, Rido; Suharti, Netty; Lestari, Yuniar. (2012). Kualitas Air Minum Yang Diproduksi Depot Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Bungus Padang Berdasarkan Persyaratan Mikrobiologi, *Jurnal Kesehatan Andalas* Vol. 1(3), pp: 129-133.
- Yoghafanny, Eka. (2015). Pengaruh Aktivitas Warga di Sempadan Sungai Terhadap Kualitas Air Sungai Winongo, *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan* Vol. 7(1), pp: 41-50.