

Analisis *Coliform* dan *Colifecal* pada Air dari Berbagai Sumber Menggunakan Metode MPN (*Most Probable Numbers*)

Coliform And Colifecal Analysis In Water Form Various Sources Using The MPN (Most Probable Numbers) Method

Ni'matus Sabila ^{1*}, Dyah Setyaningrum ²

^{1,2} Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik Universitas Bojonegoro, Bojonegoro
Jln. Lettu Suyitno No.2 Bojonegoro

*Corresponding Author: sabilanimatus@gmail.com

ABSTRAK : Air merupakan sumber daya alam yang sangat penting untuk keperluan hidup orang banyak, bahkan untuk semua makhluk hidup. Oleh karena itu, kebersihan air menjadi syarat bagi terjaminnya kesehatan. Tujuan dari analisis ini adalah untuk mengetahui jumlah bakteri *Coliform* dan *Colifecal* yang terkandung dalam badan air dan untuk mengetahui apakah kualitas air tersebut memenuhi persyaratan dan layak untuk digunakan dalam kebutuhan sehari-hari menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang penyelenggaraan perlindungan dan pengelolaan lingkungan hidup. Analisis *Coliform* dan *Colifecal* dilakukan dengan dua tahap yaitu uji penduga dan uji penegas dengan medium yang berbeda. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Most Probable Number* (MPN) untuk mendeteksi dan menghitung jumlah bakteri. Berdasarkan hasil yang diperoleh terhadap 9 sampel uji. sampel A dan B tidak mengandung bakteri *Coliform* dan *Colicefal*, sedangkan sampel C,D,E,F,G,H dan I mengandung bakteri *Coliform* dan *Colifecal* pada badan air. Kesimpulan penelitian ini kualitas air semua sampel masih cukup baik sesuai dengan standar baku mutu air Kelas II yaitu 5000 indeks MPN/100 ml.

Kata kunci : *Coliform, Colifecal, Mpn (Most Probable Numbers)*

ABSTRACT: Water is a natural resource that is very important for the needs of many people, even for all living things. Therefore, clean water is a requirement for health assurance. The purpose of this analysis is to determine the number of *Coliform* and *Colifecal* bacteria contained in a body of water and to find out whether the quality of the water meets the requirements and is suitable for use in daily needs according to Government Regulation of the Republic of Indonesia Number 22 of 2021 concerning the implementation of environmental protection and management life. *Coliform* and *Colifecal* analysis was carried out in two stages, namely the predictor test and the confirmatory test with different media. The method used in this research is the *Most Probable Number* (MPN) to detect and count the number of bacteria. Based on the results obtained for 9 test samples. samples A and B did not contain *Coliform* and *Colicefal* bacteria, while samples C, D, E, F, G, H and I contained *Coliform* and *Colifecal* bacteria in water bodies. The conclusion of this study is that the water quality of all samples is still quite good according to the Class II water quality standards, namely 5000 MPN index/100 ml.

Keywords : *Coliform, Colifecal, Mpn (Most Probable Numbers)*

1. PENDAHULUAN

Salah satu sumber daya alam yang sangat penting bagi kebutuhan banyak orang maupun semua makhluk hidup adalah air, oleh sebab itu, air sebagai

sumber daya harus dilindungi agar manusia dan makhluk hidup lainnya dapat memanfaatkannya dengan baik (Widiyanto dkk., 2015). Pencemaran air masih menjadi persoalan di berbagai negara,

khususnya di negara berkembang seperti Indonesia. Pencemaran air bisa disebabkan oleh limbah cair, sampah dan pencemar lainnya seperti pupuk, pestisida, penggunaan detergen sebagai bahan pembersih, penggunaan kemasan yang dapat menghasilkan banyak limbah dan sebagainya (Khairuddin dkk., 2019). Tingkat kepadatan penduduk sangat erat hubungannya dengan pencemaran air, karena jumlah penduduk akan selalu meningkat setiap tahunnya maka limbah yang dibuang ke lingkungan juga akan semakin meningkat. Kualitas air menurun disebabkan oleh sanitasi yang buruk, seperti rembesan air limbah rumah tangga, dalam hal ini termasuk rembesan *septic tank*. Pencemaran ini ditandai dengan adanya bakteri *Eschericia coli* dalam air tanah. Tingginya kandungan bakteri coli pada air tanah disebabkan oleh dekatnya jarak *septic tank* dengan sumur yang terletak didaerah pemukiman padat, dimana penggunaan *on-site sanitation* masih dipergunakan (Widiyanti, 2019). Air cemar limbah organik merupakan tempat yang subur bagi perkembangbiakkan mikroorganisme, termasuk mikroba patogen. Mikroba patogen yang berkembang biak di air tercemar menimbulkan berbagai macam penyakit yang mudah menular (Trisna, 2018).

Kualitas air dapat diketahui dengan beberapa indikator salah satunya adalah indikator mikrobiologi, indikator ini bisa

berupa virus, parasit maupun bakteri. Bakteri *Coliform* dapat menjadi indikator kualitas perairan. (Pratiwi dkk., 2019). Penggunaan bakteri *coliform* sebagai indikator karena bakteri jenis ini terdapat pada kotoran manusia, hewan, tanah, maupun air yang sudah terkontaminasi oleh debu, serangga, atau hewan kecil lainnya yang relatif sulit dimatikan dengan pemanasan. Menurut (Widiyanti dkk., 2017) Secara mikrobiologis, keberadaan bakteri *Coliform* dalam air bisa digunakan untuk menentukan apakah air tersebut layak digunakan sehari-hari untuk keperluan seperti air minum, perikanan, peternakan dan sebagainya. Penggunaan air yang mengandung bakteri *coli* akan menyebabkan beberapa penyakit yang berbasis lingkungan seperti diare dan penyakit kulit.

Analisis mikrobiologi air sangat penting dilakukan, karena air merupakan zat yang sangat penting bagi penunjang kehidupan mikroorganisme meliputi analisis mikrobiologi baik secara kualitatif maupun kuantitatif digunakan sebagai ukuran tingkat pencemaran. Kualitas air didasarkan pada pengujian ada tidaknya *Coliform* di dalam air dan dapat digunakan untuk menentukan kualitas air yang aman.

Berdasarkan uraian diatas, mendorong peneliti untuk melakukan analisis *Coliform* dan *Colifecal* pada air dari berbagai sumber. Pemeriksaan mikrobiologi ini dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Bojonegoro dengan

menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) yang merupakan metode untuk mendeteksi dan menghitung jumlah bakteri *coliform* dan *colifecal*. Metode MPN dapat dilakukan dengan 3 variasi, diantaranya variasi 1 menggunakan 15 tabung dengan sebutan varian 5 5 5 (5 x 10 mL, 5 x 1 mL, 5 x 0,1 mL) untuk sampel yang belum diberi perlakuan atau angka bakterinya diperkirakan tinggi misalnya air limbah, air sumur, air sungai, dan sebagainya. Variasi 2 menggunakan 7 tabung dengan sebutan varian 5 1 1 (5 x 10 mL, 1 x 1 mL, 1 x 0,1 mL) untuk sampel yang sudah diolah dan angka bakterinya diperkirakan rendah. Variasi 3 menggunakan 9 tabung dengan sebutan varian 3 3 3 (3 x 10 mL, 3 x 1 mL, 3 x 0,1 mL) (Sunarti, 2015). Variasi jumlah tabung bisa mempengaruhi pada tingkat sensitivitas pengujian. Tingginya tingkat sensitivitas pengujian dapat disebabkan karena semakin banyak tabung yang digunakan pada setiap kelompok. Dengan demikian dapat diperoleh indeks berdasarkan tabel MPN untuk menyatakan perkiraan jumlah *Coliform* pada sampel (Dewi dan Gusnita, 2019). Penentuan kualitas air dilakukan untuk memastikan bahwa air dari berbagai sumber tersebut masih sesuai dengan baku mutu air kelas II yang ditetapkan dalam Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang penyelenggaraan perlindungan dan pengelolaan lingkungan hidup.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi pipet ukur, tabung reaksi, tabung durham, rak tabung, batang pengaduk, lampu Bunsen, kapas, inkubator, jarum ose, autoklaf, gelas ukur, neraca analitik, LAF (*Laminar Air Flow*), Water Bath. Bahan yang digunakan meliputi Sampel air dari berbagai sumber di kabupaten Bojonegoro, Media *Lauryl Tryptose Broth* (LTB), Media *Brilliant Green Lactose Brouth* (BGLB), Media *EC Broth*, Aquadest dan Aquadest steril.

2.2 Prosedur

2.2.1 Pengenceran sampel

Menyiapkan Sampel Air dari berbagai sumber. Siapkan juga 3 buah tabung reaksi kemudian diisi dengan 9 ml Aquades steril. Secara aseptik menginokulasikan 1 ml sampel air ke dalam tabung reaksi pertama yang berisi 9 ml aquades steril sehingga diperoleh pengenceran sebesar 10^{-1} . Setelah itu, tabung reaksi berisi pengenceran 10^{-1} diinokulasikan 1 ml ke tabung kedua berisi 9 ml Aquades steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Melakukan pengenceran yang sama yaitu tabung rekasi berisi pengenceran 10^{-2} diinokulasikan 1 ml ke tabung rekasi ketiga berisi 9 ml Aquades steril sehingga diperoleh pengenceran 10^{-3} .

2.2.2 Pembuatan Media *Lauryl Tryptose Broth* (LTB)

Timbang 35,6 g media *Lauryl Tryptose Broth* (LTB). Masukkan ke dalam Beaker glass. Tambahkan 1 liter aquades kemudian larutkan hingga homogen. Masukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml. Masukkan tabung durham dan bolak-balikkan tabung durham untuk menghilangkan gelembung udara. Kemudian sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya dinginkan sampai suhu 25°C.

2.2.3 Pembuatan Media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB)

40 g media BGLB dimasukkan dalam 1 liter aquadest, kemudian dilarutkan hingga homogen, selanjutnya dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml yang telah dilengkapi tabung durham dan bolak-balikkan tabung durham untuk menghilangkan gelembung udara. Setelah itu sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dinginkan sampai suhu 25°C.

2.2.4 Pembuatan Media *EC Broth*

37 g media *EC Broth* dimasukkan dalam 1 liter aquadest, kemudian dilarutkan hingga homogen, selanjutnya sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dilengkapi tabung durham dan bolak-balikkan tabung durham untuk menghilangkan gelembung udara. Setelah itu sterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian dinginkan sampai suhu 25°C.

2.2.5 Uji Bakteri *Coliform*

2.2.5.1 Uji Pendugaan Bakteri *Coliform* (*Presumptive test*)

1. Hasil pengenceran sampel 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} dipipet 1 ml ke dalam masing-masing 5 tabung setiap satu sampel sebagai replikasi yang berisi 10 ml *Lauryl Triphotse Broth* yang di dalamnya terdapat tabung durham terbalik..
2. Semua tabung diinkubasi pada suhu 35°C selama 2x24 jam.
3. Catat tabung yang dinyatakan positif dengan terbentuknya gas pada tabung durham yang mengindikasikan adanya bakteri *Coliform*

2.2.5.2 Uji Penegasan (*Confirmative test*)

Total *Coliform*

1. Tabung yang dinyatakan positif pada uji pendugaan, diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi media BGLB, masing-masing tabung diisi dengan satu hingga dua ose dilakukan secara aseptik.
2. Dinkubasi pada suhu 35°C selama 2x24 jam.
3. Setelah 48 jam amati dengan melihat tabung yang menunjukkan terbentuknya gelembung gas dalam tabung durham sehingga dinyatakan positif *Coliform*.
4. Hasil dibaca dengan menghitung jumlah tabung yang positif. Angka yang diperoleh dicocokkan dengan tabel MPN.

Colifecal

1. Tabung yang dinyatakan positif pada uji pendugaan, diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi media *EC Broth*, masing-masing tabung diisi dengan satu hingga dua ose yang pengerjaannya dilakukan secara aseptik.
2. Diinkubasi pada suhu 44,5°C selama 2x24 jam.
3. Setelah 48 jam amati dengan melihat tabung yang menunjukkan terbentuknya gelembung gas dalam tabung durham sehingga dinyatakan positif *Colifecal*.
4. Hasil dibaca dengan menghitung jumlah tabung yang positif. Angka yang diperoleh dicocokkan dengan tabel MPN.

2.3 Analisis Data

Metode analisis data pada penelitian ini menggunakan Teknik komparatif yaitu dengan membandingkan kualitas air dalam penelitian dengan standar baku mutu air kelas II untuk total *coliform* sesuai Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang penyelenggaraan perlindungan dan pengelolaan lingkungan hidup.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Uji Pendugaan Bakteri Coliform (*Presumptive test*)

Uji ini merupakan tahap awal penelitian dengan tujuan untuk mengetahui dugaan keberadaan bakteri *Coliform* dalam sampel air. Media yang digunakan adalah

Lauryl Triptose Broth (LTB), yaitu media cair yang mengandung laktosa yang merupakan salah satu bahan yang dapat terurai oleh bakteri *Coliform*. Laktosa yang telah terurai dapat diamati dengan terbentuknya gelembung gas pada tabung durham dalam tabung reaksi.

Pada penelitian yang dilakukan diperoleh hasil pada (tabel 1) bahwa sampel A dan B tidak terbentuk gelembung gas pada tabung durham dengan dugaan sampel tersebut tidak mengandung bakteri *coliform*, sedangkan pada sampel C,D,E,F,G,H dan I terbentuk gelembung gas pada tabung durham dengan dugaan sampel tersebut mengandung bakteri *coliform*. Hasil sampel positif dilanjutkan dengan uji konfirmasi untuk memastikan adanya bakteri *coliform* dalam sampel.

Tabel 1. Uji pendugaan *Coliform*

KODE	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
A	-	-	-
B	-	-	-
C	5	2	-
D	5	3	1
E	5	1	-
F	5	1	-
G	5	3	1
H	5	3	-
I	3	1	-

Keterangan :

Sampel kode A dan B : Larutan blanko (Aquadess)

Sampel kode C,D,E, F,G,H dan I : Air badan air (Air sungai, Air permukaan, Mata air)

3.2 Uji Penegasan bakteri *coliform* (*Confirmative test*)

Total *Coliform*

Uji konfirmasi ini bertujuan untuk menguatkan dugaan sebelumnya tentang keberadaan bakteri *Coliform* dalam sampel air. Uji ini merupakan tahap seleksi pertumbuhan bakteri *coliform* terhadap bakteri lain dengan menggunakan media selektif bakteri *coliform* yaitu BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*).

Tabel 2. Hasil uji penegasan *Coliform*

KODE	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	MPN <i>Coliform</i> per 100 ml
A	-	-	-	<1,8
B	-	-	-	<1,8
C	5	2	-	49
D	5	3	-	79
E	5	1	-	33
F	5	1	-	33
G	5	2	-	49
H	5	3	-	79
I	3	1	-	11

Keterangan :

Sampel kode A dan B : Larutan blanko (Aquades)

Sampel kode C,D,E, F,G,H dan I : Air badan air (Air sungai, Air permukaan, Mata air)

Berdasarkan hasil uji penegasan dengan perhitungan angka bakteri *Coliform* menggunakan metode MPN pada (tabel 2) diperoleh hasil sampel A dan B tidak terbentuk gelembung gas yang mengindikasikan sampel tersebut tidak mengandung bakteri *Coliform* sedangkan pada sampel C,D,E,F,G,H dan I terbentuk gelembung gas yang mengindikasikan adanya bakteri *Coliform*. Berdasarkan standar baku mutu air kelas II, jumlah bakteri *coliform* pada ketujuh sampel tersebut dinyatakan masih dibawah

ambang batas maksimum yaitu 5000 indeks MPN/100 ml.

3.3 *Colifecal*

Uji ini bertujuan untuk mengkonfirmasi ada tidaknya bakteri *colifecal* pada sampel dengan menggunakan media *Eschericia Coli Broth* (ECB). Pada tahap ini sampel dalam media ECB diinkubasi selama 48 jam pada suhu 44°C. Pada suhu ini *coliform* tidak dapat tumbuh secara optimal, tetapi untuk bakteri *colifecal* dapat tumbuh dengan sangat baik.

Berdasarkan Hasil uji konfirmasi pada (Tabel1) dengan media ECB menunjukkan bahwa sampel A dan B tidak terbentuk gelembung gas yang mengindikasikan sampel tersebut tidak mengandung bakteri *colifecal* sedangkan pada sampel C,D,E,F,G,H dan I terbentuk gelembung gas yang mengindikasikan adanya bakteri *colifecal*.

Tabel 3. Hasil uji konfirmasi *Colifecal*

KODE	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	MPN <i>Colifecal</i> per 100 ml
A	-	-	-	<1,8
B	-	-	-	<1,8
C	5	2	-	49
D	5	1	-	33
E	5	1	-	33
F	5	1	-	33
G	5	1	-	33
H	5	2	-	49
I	3	1	-	11

Keterangan :

Sampel kode A dan B : Larutan blanko (Aquades)

Sampel kode C,D,E, F,G,H dan I : Air badan air (Air sungai, Air permukaan, Mata air)

Berdasarkan standar baku mutu air kelas II, jumlah bakteri *colifecal* pada ketujuh sampel tersebut dinyatakan masih dibawah ambang batas maksimum yaitu 5000 indeks MPN/100 ml.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil data penelitian yang diperoleh terdeteksi bakteri *coliform* dan *colifecal* pada tujuh sampel, namun jika dibandingkan dengan standar baku mutu air kelas II menurut Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang penyelenggaraan perlindungan dan pengelolaan lingkungan hidup. Tujuh sampel tersebut masih berada di bawah ambang batas maksimum. Artinya, semua sampel air dari berbagai sumber tersebut secara umum masih cukup baik, namun hal ini juga harus tetap diperhatikan oleh masyarakat sekitar terutama jika pemanfaatannya sampai untuk dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Dewi, A.P. Dan Gusnita, P. (2019) "Analisa Cemaran Mikroba Pada Es Batu Yang Dijual Di Sekitar Universitas Abdurrab Dengan Metode Most Probable Number (Mpn)," *Jurnal Farmasi Higea*, 11(2), Hal. 154–158.
- Khairuddin, Yamin, M. Dan Syukur, A. (2019) "Pelatihan Tentang Penggunaan Ikan Sebagai Indikator Dalam Menentukan Kualitas Air Sungai Di Ampenan Tengah Mataram," *Jurnal Pengabdian*

Magister Pendidikan Ipa, 2(1), Hal. 25–29.

- Pratiwi, A.D., Widyorini, N. Dan Rahman, A. (2019) "Analisis Kualitas Perairan Berdasarkan Total Bakteri Coliform Di Sungai Plumbon, Semarang," *Journal Of Maquares*, 8(3), Hal. 211–220.
- Sunarti, R.N. (2015) "Uji Kualitas Air Sumur Dengan Menggunakan Metode Mpn (Most Probable Numbers)," *Biolimi*, 1(1), Hal. 30–34.
- Trisna, Y. (2018) "Kualitas Air Dan Keluhan Kesehatan Masyarakat Di Sekitar Pabrik Gula Watoetoelis," *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 10(2), Hal. 220–230.
- Widiyanti, B.L. (2019) "Studi Kandungan Bakteri E.Coli Pada Airtanah (Confined Aquifer)Di Permukiman Padat Desa Dasan Lekong, Kecamatan Sukamulia," *Jurnal Geodika*, 3(1), Hal. 1–12.
- Widiyanti, N.L.P.M., Warpala, I.W.S. Dan Suryanti, I.A.P. (2017) "Parameter Fisik Dan Jumlah Perkiraan Terdekat Coliform Air Danau Buyan Desa Pancasari Kecamatan Sukasada Buleleng," *Jurnal Sains Dan Teknologi*, 6(1), Hal. 178–188.
- Widiyanto, A.F., Yuniarno, S. Dan Kuswanto (2015) "Polusi Air Tanah Akibat Limbah Industri Dan Limbah Rumah Tangga," *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 10(2), Hal. 246–254.