

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA USU. Dengan pengambilan sampel di dusun Galianan merupakan salah satu desa yang berada diwilayah kecamatan kerajaan, tepatnya di kab. Pakpak Bharat, Provinsi Sumatera Utara. ada 3 titik pengambilan sampel dibagian hulu, tengah dan hilir air.

4.2 Pengamatan MPN (*Most Probable Number*)

Sampel dari penelitian ini ialah air sungai dengan titik pengambilan sampel yang dibagi menjadi tiga titik yaitu hulu, tengah dan hilir. Di Dusun Galianan Kecamatan Kerajaan Kab. Pakpak Bharat. Memiliki pH air yang stabil yaitu 7,1 hingga 8,2. Menurut peraturan menteri kesehatan No. 492/Menkes/Per.IV/2010 batas pH air yang diperbolehkan pada air sungai adalah 6,5 hingga 8,5. pH dari sungai di Dusun Galianan termasuk sungai yang sesuai dengan kategori bersih.

4.2.1 Uji Penduga

Pada Uji MPN, uji penduga dilakukan dengan menginokulasi pada media LB selama 24 jam dengan suhu ruangan 37°C kemudian diamati keberadaan Hasil yang diperoleh menunjukkan positif terdapat gelembung pada tabung durham yang berada didalam tabung reaksi. Dengan menggunakan media *Lactosa Broth* single dan *Lactosa Broth double straight* untuk uji penduga ada 3 titik yaitu Hulu 1, Tengah 2, Hilir 3 sebagai berikut :

Tabel 4.1 Uji MPN (*Most Probable Number*) Penduga (*Presintive test*)

Sampel	0,1ml	1 ml	10 ml	Total positif	Total MPN
Titik 1	+ - -	+ + -	+ + +	3- 2- 1	95/ 100 ml
Titik 2	+ - +	+ + -	+ + +	3- 2- 2	116/ 100 ml
Titik 3	+ + +	+ + +	+ + -	3- 3- 2	438/ 100 ml

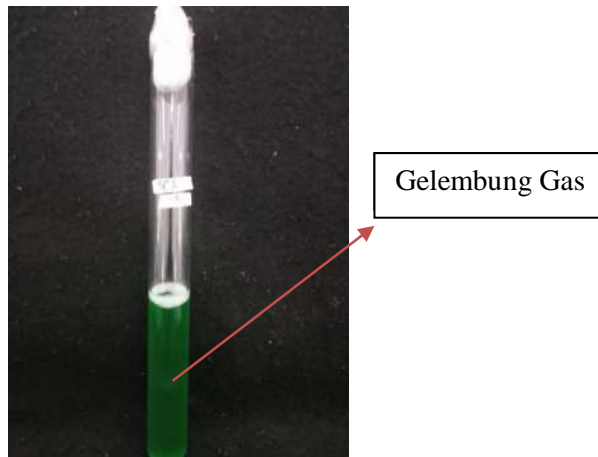
Berdasarkan hasil tabel 4.1. Dari hasil positif pada uji penduga menunjukkan bahwa adanya fermentasi laktosa yang dilakukan oleh bakteri dan menghasilkan asam yang berupa gelembung gas. Dimana bakteri *Coliform* ialah jenis dari bakteri gram negatif yang memiliki sifat anaerob fakultatif dengan mengolah laktosa sebagai sumber makan (Novita, 2015). Media LB (*Lactosa Broth*) pada uji MPN memiliki tujuan untuk mengetahui apakah terdapat bakteri *Coliform* dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri dengan jenis gram positif sehingga bakteri gram negatif dapat mengalami pertumbuhan yang lebih maksimal (widiyanti, 2004).



Gambar 4.1 Media LB Sampel positif
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2022)

Berdasarkan hasil Uji Penduga dengan metode MPN yang telah dilakukan pada hasil pemeriksaan bakteri *Coliform* pada sumber air Simbara di Dusun Galiaman Kec. Kerajaan Kab. Pakpak Bharat yang dilakukan di 3 titik. Dengan konsentrasi 0,1 ml, 1 ml, 10 ml yang sama di setiap titik pengambilan sampel. Diketahui bahwa pada tabung media LB semua sampel air mengandung bakteri *Coliform* >0/100 ml. sehingga berdasarkan PERMENKES RI No.32 Tahun 2017 yang menyatakan jumlah maksimum bakteri *Coliform* 50 cfu/100 ml dan maksimum *E-Coli* 0 cfu/100 ml. Air tersebut tidak memenuhi syarat untuk dikonsumsi secara langsung dikarenakan melampaui batas maksimum kandungan bakteri *Coliform* pada air layak konsumsi secara langsung. Diperoleh hasil yang terdapat gelembung pada sampel air titik 1/hulu dengan nilai ragam 3-2-1 dengan

nilai indeks total *Coliform* 95/100 ml. Berbeda pada titik 2/tengah hasil lebih sedikit dibanding pada sampel 1/hulu dengan nilai ragam 3-2-2 dengan nilai indeks total *Coliform* 116/100 ml. sedangkan titik 3/hilir hasil nilai ragam yang diperoleh 3-3-2 dengan nilai indeks total *Coliform* 438/100 ml.



Gambar 4.2 Media BGLB Sampel Positif
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2022)

Media BGLB mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram Positif dan meningkatkan pertumbuhan bakteri *Coliform*. Ada atau tidaknya bakteri *Coliform* ini ditandai dengan terbentuknya asam dan gas CO₂ yang disebabkan karena fermentasi laktosa oleh bakteri golongan *Coliform*.

4.2.2 Uji Penegasan

Hasil uji Penegasan dengan menggunakan media BGLB menunjukkan hasil positif dari uji penduga dilanjutkan dengan uji penegasan atau uji penguat dengan menggunakan media BGLB dilakukan dengan cara menginokulasi dengan media BGLB dalam tabung selama 24 jam dengan suhu ruangan 37°C kemudian diamati keberadaan dari hasil yang didalam tabung reaksi sebagai berikut :

Tabel 4.2 Uji Penegasan (*Confirmed Test*)

Sampel	0,1 ml	1 ml	10 ml	Total Positif	Total MPN
Titik 1	- + -	- - -	+ - -	1 - 0 - 1	7/ 100 ml
Titik 2	+ - -	+ - +	- - +	1 - 2 - 1	15/ 100 ml
Titik 3	- + -	- - +	+ - -	1 - 1 - 1	11/ 100 ml

Keterangan : + = terdapat gelembung - = tidak ada gelembung

Berdasarkan tabel 4.2 diatas dapat diketahui bahwa pada tabung BGLB terdapat 3 sampel air yang tercemar bakteri *Coliform* yaitu Sampel air titik 1/hulu sebesar 7/100 ml, sampel titik 2 15/100 ml dan titik 3 11/100 ml. hal tersebut menunjukkan bahwa ketiga sampel air tersebut tidak memenuhi standar syarat sebagaimana yang terdapat pada sehingga berdasarkan PERMENKES RI No.32 Tahun 2017 yang menyatakan jumlah maksimum bakteri *Coliform* 50 cfu/ 100 ml dan maksimum *E-Coli* 0 cfu/100 ml.

4.2.3 Uji Pelengkap

Pada uji terakhir yaitu uji pelengkap menggunakan media EMBA (*Eosin Methyl Blue*) Selama kurang lebih 24 jam pada suhu 37°C/Suhu ruangan. Yang ditandai dengan adanya warna koloni hijau metalik pada *Coliform* fekal dan dan *Coliform* non fekal yang ditandai dengan warna merah muda. Media EMBA digunakan pada uji pelengkap dari MPN yang berfungsi untuk membuat perbedaan dari bakteri kelompok gram negatif yang tumbuh berdasarkan kemampuan dalam memfermentasi laktosa. Media EMBA mengandung suatu indikator eosin Y dan *Methylen blue* gram negatif untuk memfermentasi laktosa yang menghasilkan koloni bakteri berwarna hijau metalik. Sehingga bakteri dari kelompok gram positif tidak dapat memfermentasi laktosa tidak menghasilkan warna (bening) (Dharma, 2018).

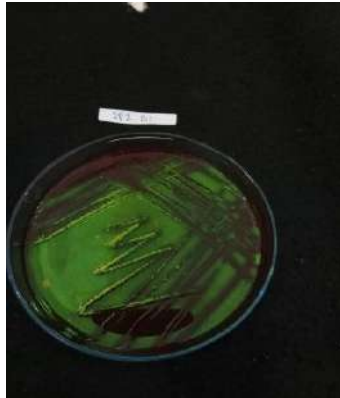
Tabel 4.3 Uji EMBA

Sampel	0,1 ml	1 ml	10 ml
Titik 1	+	-	-
Titik 2	+	-	+
Titik 3	-	-	-

Keterangan : + = Positif *Coliform*

- = Negatif *Coliform*

Berdasarkan tabel 4.3 diatas dapat diketahui bahwa pada 3 sampel yang diperiksa dengan uji penduga, uji penegasan dan uji pelengkap terdapat 3 bakteri *Coliform* fekal pada konsentrasi 0,1ml, 10 ml, sampel 2 dan 0,1 ml Sampel 1.



Gambar 4.3 koloni pada media EMBA
(Sumber : Dokumentasi Pribadi, 2022)

Bakteri *Coliform* yang berada didalam air menunjukkan adanya mikroba yang bersifat toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan. Dimana semakin tinggi tingkat kontaminasi bakteri *Coliform* maka semakin tinggi pula resiko kehadiran bakteri pathogen yang lain. Hasil uji pelengkap menunjukkan gambaran makroskopis koloni bakteri yang dihasilkan dari masing-masing sampel (Suprihatin, 2003). Pada suasana asam, *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) akan membentuk kompleks yang dapat mengendapkan bakteri *Coliform* dan membentuk koloni berwarna hijau metalik mengkilap menandakan bahwa reaksi yang merupakan karakteristik *Escherichia coli*. Berwarna kilap kehijauan sebagai indikator bakteri fekal yang memfermentasi laktosa atau sukrosa.

Tabel 4.4 Tabel Golongan *Coliform* pada media EMBA

Warna koloni	Jenis isolat
Hijau metalik	<i>Escherichia coli</i>
Putih transparan bintik kehitaman	<i>Proteus mirabilis</i>
Merah muda menyala	<i>Enterobacter, aerogenes,</i> <i>klebsiella pneumonia</i>

Sumber : (Febrianti ikke, 2020)

Seperti yang diketahui bakteri *Coliform* merupakan bakteri indikator untuk menentukan kualitas atau mutu air dari lingkungan air, tanah atau makan. Bakteri *Coliform* bakteri gram negatif, mikroba yang tidak memiliki spora namun dapat memfermentasi laktosa menjadi gas dan asam. Ada beberapa jenis bakteri yang tergolong bakteri *Coliform* seperti :

Klebsiella pneumoniae merupakan bakteri gram negatif (-), berbentuk batang pendek, memiliki ukuran 0,5-0,5 x 1,2 μ . Bakteri ini memiliki kapsul, tetapi tidak membentuk spora. *Klebsiella Pneumoniae* tidak mampu bergerak karena tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas.

Enterobacteriaceae merupakan bakteri yang ditemukan di tanah, air, udara serta di saluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri *Shigella* dan *Enterobacter* merupakan contoh bakteri yang di hidup disaluran pencernaan manusia.

Citrobacter koseri merupakan basil Gram-negatif, tidak membentuk spora. Ini adalah anaerob fakultatif yang mampu melakukan respirasi aerobik. Ini motil melalui *flagela peritrichous*. Itu adalah anggota keluarga *Enterobacteriaceae*. Anggota keluarga ini adalah bagian dari flora normal saluran pencernaan manusia dan hewan.

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan ukuran berkisar antara 1.0-1.5 μ m x 2.0-6.0 μ m, tidak motil atau motil dengan flagela serta dapat tumbuh dengan oksigen atau tanpa oksigen, bersifat fakultatif anaerobik dan dapat tahan pada media yang miskin nutrisi. Bakteri *Escherichia coli* dalam air digunakan sebagai tanda di dalam air tersebut telah terkontaminasi feses (kotoran). Bakteri *Coliform* diklasifikasi dalam kelompok *Eubacteria*, ordo *Eubacteriales*, famili *Enterobactericeae*. Berdasarkan asalnya kelompok ini dibagi menjadi 2 yaitu fekal dan non fekal. Fekal *Escherichia coli*. Non fekal *Aerobacter* dan *Klebsiella*.

4.3 Uji IMVIC

Uji IMVIC dilakukan untuk membedakan sesama mikroba yang masuk dalam kelompok *Enterobactericeae* dengan bakteri *Escherichia coli* dengan pembedaan anggota kelompok yang didasarkan biokimia serta reaksi enzimatik dari bakteri-bakteri yang menghasilkan satu substrat yang spesifik.

Tabel 4.5 Hasil Uji IMVIC Isolat Bakteri *Coliform* pada Sumber Air Simbara

Uji IMVIC	Sp1	Sp2	Sp3
Uji Indol	Negatif	Negatif	Negatif
Uji Methyl Red	Positif	Positif	Positif
Uji Voges Proskauer	Negatif	Negatif	Negatif
Uji Sitrat	Positif	Positif	Positif
Genus	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>

Hasil pengamatan yang telah dilakukan pada uji IMVIC (Uji Indol, Methyl Red, Voges-Proskauer, Sitrat) menunjukkan hasil yang diperoleh bahwa pada uji indol seluruh sampel negatif dimana pada uji indol negatif yang ditandai tidak adanya terbentuk lapisan merah dikutip dari sari (2019). Terdapat anggota genus *Escherichia* yang menghasilkan hasil uji negatif pada uji indol yaitu anggota spesies *Escherichia blattae*. Uji indol merupakan uji yang dilakukan untuk melihat kemampuan organisme yang mendegradasi asam amino triptofan dan isolat yang diisolasi memiliki kemampuan tersebut sehingga dapat dikatakan bahwa bakteri yang tumbuh bukan bakteri anggota spesies *Escherichia coli* namun masih genus *Escherichia*.

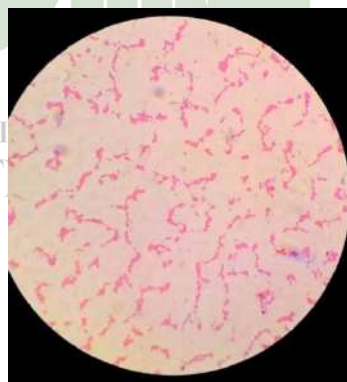
Hasil uji metyl red menunjukkan bahwa pada seluruh sampel uji metyl red positif media. Uji metyl red dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam dengan konsentrasi tinggi sebagai hasil akhirnya dan hasil asam yang terbentuk berubah menjadi merah dengan ditambahkan reagen metyl red (Sari, 2019).

Hasil uji Voges Proskauer menunjukkan bahwa pada seluruh sampel uji Voges Proskauer negatif tidak terjadi perubahan. Uji VP merupakan pengujian untuk mendeteksi asetoin dalam kultur bakteri. Pengujian dilakukan dengan penambahan alpha-naftol pada media VP yang telah diinokulasikan bakteri. Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan hasil yang sesuai sehingga menunjukkan bahwa sampel diduga mengandung bakteri anggota genus *Escherichia* (Hemarj, 2013).

Hasil uji Sitrat menunjukkan bahwa pada seluruh sampel uji sitrat positif terjadi perubahan warna pada media yang awal berwarna hijau menjadi warna biru. Dikutip Sari (2019). Uji sitrat merupakan salah satu media yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon yang digunakan. Bakteri anggota spesies *Escherichia* akan menghasilkan perubahan warna karena anggota spesies *Escherichia* dapat tumbuh dengan menggunakan sitrat dalam media sebagai karbon (Chatim, 2002).

4.4 Pewarnaan Gram

Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan pewarnaan gram menggunakan alat bantu mikroskop. Pewarnaan gram dilakukan untuk mengetahui jenis gram dari isolat yang telah ditemukan. Bakteri jenis gram positif identik dengan warna ungu yang menunjukkan bakteri tersebut mampu dalam mempertahankan zat warna Kristal violet. Sedangkan bakteri gram negatif ditandai dengan warna merah yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak mampu mengikat zat warna Kristal violet yang hanya terwarnai oleh safranin (Yulvizar, 2015). Berikut hasil pewarnaan gram terhadap isolat dari bakteri *Coliform* :



Gambar 4.4 hasil pewarnaan gram
(Sumber : Dokumentasi pribadi, 2022)

Hasil pewarnaan gram pada bakteri *Coliform* yang diperoleh dari sumber air simbara adalah gram negatif, menunjukkan bahwa bakteri tersebut berbatang pendek dan berwarna merah setelah proses pewarnaan gram. Hal ini disebabkan

karena konsentrasi terhadap lipid dan ketebalan lapisan peptidoglikan pada dinding sel bakteri dikatakan bahwa bakteri tersebut termasuk genus *Escherichia coli* yang merupakan bakteri dari gram negatif, bentuk sel batang, alkohol dapat meningkatkan porositas dinding sel dengan melarutkan lipid lapisan luar menjadi lebih mudah dihilangkan dari lapisan peptidoglikan yang tidak tertaut silang kuat. Maka dari itu efek pencucian alkohol memfasilitasi pelepasan kompleks Kristal violet yang tidak terikat. Yang membuat sel-sel menjadi kehilangan warna atau tidak berwarna. Hanya sel-sel negatif yang mengalami kehilangan warna sehingga sel-selnya menyerap pewarna tandingan. Sedangkan pada gram positif mempertahankan warna ungu dari pewarnaan primer (Rahayu, 2017).

4.5 Identifikasi Bakteri

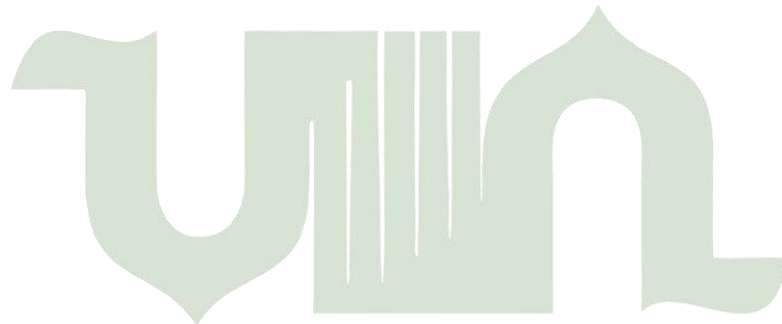
Identifikasi secara makroskopis dilakukan dengan cara melihat langsung tanpa bantuan alat seperti mikroskop dengan cara mengamati bentuk koloni, melihat elevasi, dan tepi koloni.

Tabel 4.6 Hasil Isolat Identifikasi Morfologi Bakteri *Coliform*.

Karakteristik	Kode isolat		
	Sp 1	Sp2	Sp3
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat
Tepian	Rata	Rata	Rata
Elevasi	Rata	Rata	Rata
Warna	Hijau metalik	Hijau metalik	Hijau metalik
Gram	Negatif	Negatif	Negatif
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang
Genus	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Escherichia</i>

Dari hasil pengamatan secara morfologi maka diperoleh hasil bahwa ada 3 isolat yang di peroleh dengan karakteristik yang sama yaitu genus *Escherichia coli* yang menggunakan media selektif yaitu *Eosin Methylene Blue* (EMB). Berdasarkan karakteristik ketiga isolat bakteri diatas sesuai dengan teori pada

buku *Escherichia Coli* pathogenesis, analisis dan kajian resiko (winiyati dkk, 2018) yang menjelaskan bahwa bakteri *Escherichia coli* memiliki karakteristik gram negatif berbentuk batang dengan ukuran 1.0-1.5 μm . Indol negatif, sitrat positif, hal ini juga sesuai dengan teori *cowan and steel's manual for the identification of medical bacteria* (barrow & feltham, 1993) dimana uji MR positif, VP negatif. Media yang merupakan media selektif untuk menumbuhkan bakteri anggota genus *Escherichia* maka asam yang dihasilkan dari fermentasi laktosa akan menghasilkan warna koloni yang spesifik untuk bakteri anggota genus *Escherichia* yang memiliki warna koloni hijau dengan kilap logam sedangkan *Coliform* non fekal lain yang bentuk koloninya berwarna coklat.



UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
SUMATERA UTARA MEDAN