BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Air Minum Isi Ulang

Pada saat ini masyarakat mulai peduli terhadap kesehatan, salah satunya dengan cara memperhatikan air minum yang dikonsumsi. Air minum isi ulang termasuk salah satu jenis air minum yang banyak dipilih masyarakat karena dapat dikonsumsi atau diminum secara langsung tanpa dimasak terlebih dahulu. Hal ini disebabkan karena air minum isi ulang telah dilakukan proses pemurnian dan penyinaran ultraviolet. Selain itu air minum isi ulang dijual dengan harga yang lebih murah dibandingkan dengan harga air minum dalam kemasan, bahkan ada yang dijual dengan harga seperempat dari harga air minum dalam kemasan. Maka itu banyak bermunculan depot air minum isi ulang (DAMIU).

Pada umumnya, usaha air minum isi ulang yang masih berskala kecil dari segi pengetahuan dan sarana-prasarana masih belum cukup sehingga kualitas air yang dihasilkan dapat berpengaruh terhadap standar kesehatan yang telah ditetapkan (Pradana & Marsono, 2013). Sehingga tidak semua depot air minum isi ulang (DAMIU) dikelola sesuai dengan peraturan PERMENKES 492/MENKES/IV/2010 (Bustomi dkk, 2018).

Untuk mengetahui kadar maksimum *coliform* pada air minum isi ulang dapat dilihat pada Permenkes No 492 tahun 2010 tentang persyaratan kualitas air minum, salah satunya yaitu kadar maksimum total bakteri *coliform* pada air minum isi ulang adalah 0/100 ml. Parameter wajib menurut Permenkes No 492 tahun 2010 tentang persyaratan kualitas air minum dapat dilihat pada tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Parameter Wajib Pada Permenkes No 492 tahun 2010 Tentang Kualitas Air Minum

No	Jenis Parameter	Satuan	Kadar maksimum yang diperbolehkan
1	Parameter yang berhubungan langsung dengan Kesehatan		
	a. Parameter Mikrobiologi		
	1). *E. co1i*	Jumlah per 100 ml sampel	0
	2). Total Bakteri Koliform	Jumlah per 100 ml sampel	0
	b. Kimia an-organik		
	1). Arsen		0,01
	2). Fluorida	mg/ L	1,5
	3). Total Kromium	mg/ L	0,05
	4). Kadmium	mg/ L	0,003
	5). Nitrit, Sebagai NO_2	mg/ L	3
	6). Nitrat, Sebagai NO_3	mg/ L	50
	7). Sianida	mg/ L	0,07
	8). Selenium	mg/ L	0,01
2	Parameter yang tidak langsung berhubungan dengan Kesehatan		
	a. Parameter Fisik		
	1). Bau		Tidak berbau
	2). Warna	TCU	15
	3)Total zat padat terlarut (TDS)	mg/ L	500
	4). Kekeruhan	NTU	5
	5). Rasa		Tidak berasa
	6). Suhu		suhu udara ± 3
	b.Parameter Kimiawi		
	1). Aluminium	mg/ L	
	2). Besi	mg/ L	0,3
	3). Kesadahan	mg/ L	500
	4). Khlorida	mg/ L	250
	5). Mangan	mg/ L	
	6). pH		8 5
	7). Seng	mg/ L	3
	8). Sulfat	mg/ L	250
	9). Tembaga	mg/ L	2
	10). Axnonia	mg/ L	1,5

No	Jenis Parameter	Satuan	Kadar maksimum yang diperbolehkan

2.2. Cemaran Mikroba

Cemaran mikroba adalah cemaran pada makanan dan minuman yang disebabkan oleh bakteri, dan memberikan pengaruh buruk bagi kesehatan manusia. Cemaran mikroba akan meningkat ketika barang olahan disimpan dan didistribusikan. Peningkatan jumlah cemaran mikroba dapat menyebabkan berbagai penyakit yang dapat mengancam kesehatan manusia. Selain itu, aktivitas mikroba dapat menghasilkan dekomposisi dan mengembangkan senyawa jahat atau toksik lainnya (Kuswiyanto, 2015).

Cemaran pada air dapat terjadi karena masuknya atau dimasukkannya zat, atau komponen lain ke dalam air yang disebabkan oleh kegiatan manusia sehingga turun nya kualitas air dan mengakibatkan air tidak dapat digunakan sesuai fungsinya lagi. Indikator cemaran mikroba pada air minum yaitu total *coliform* dan *E.coli*. Total *coliform* merupakan sekelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi kotoran. Total *coliform* yang ditemukan menunjukkan kemungkinan adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan. Air olahan DAM harus bebas dari kandungan total *coliform* dan *E.coli* (Pakpahan dkk, 2015).

2.2.1. *Coliform*

Coliform adalah sekelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator polusi kotoran dan salinitas yang tidak baik terhadap perairan. Hal tersebut mampu mempengaruhi kesehatan biota maupun manusia (Saputri & Efendy, 2020). *Coliform* termasuk salah satu golongan mikroorganisme yang banyak digunakan sebagai indikator, yaitu bakteri ini menjadi sinyal untuk menentukan suatu sumber air telah terkontaminasi oleh patogen atau tidak. Bakteri ini dapat mendeteksi patogen pada air seperti virus, protozoa, dan parasit. Bakteri ini lebih mudah diisolasi dan ditumbuhkan, serta

memiliki daya tahan yang lebih tinggi. Selain itu, bakteri pembusuk dapat memproduksi bermacam-macam racun, seperti indol dan skatol, dan dapat menimbulkan penyakit bila jumlahnya berlebih di dalam tubuh (Adrianto, 2018).

Adanya bakteri *coliform* pada air menunjukkan bahwa terdapat mikroba bersifat toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan. Semakin tinggi tingkat kontaminasi bakteri *coliform,* semakin tinggi pula resiko kehadiran bakteri patogen lain, dan dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Keberadan *coliform* disebabkan dari indikasi dari kondisi prosessing atau sanitasi yang tidak memadai. Adanya bakteri dalam depo air minum isi ulang dapat disebabkan oleh peralatan yang tidak higienis, proses pengolahan, serta jenis polutan berupa mikroba yang terdapat pada sumber air yang digunakan oleh depot air minum isi ulang (Askrening & Yunus, 2017).

2.3. Metode MPN

Metode MPN adalah suatu metode numerasi mikroorganisme dengan menggunakan data dari hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik (Anisa dkk, 2023). Metode MPN cukup mudah dilakukan, dan memiliki sensitivitas cenderung lebih baik sehingga cocok untuk sampel dengan konsentrasi mikro organisme rendah khususnya dari jenis sampel air, susu, dan makanan. Dalam metode ini, diusahakan agar bakteri terdistribusi sempurna dalam homogenisasi sampel dengan tujuan agar sel bakteri dapat terpisah-pisah secara individual, dan tidak terbentuk rantai atau koloni bakteri (Razi & Syahputra, 2021).

Kekurangan dari metode ini yaitu, sampel yang digunakan satu kali sedikit, jumlah bakteri *E.coli* hanya jumlah kasar, tidak dapat dilakukan di lapangan, selain memiliki kekurangan adapun kelebihan dari metode ini yaitu, sederhana, dapat digunakan untuk menghitung *coliform* fekal. (Apriliyanti, 2020). Prinsip metode MPN didasarkan pada jumlah faktor kuantitas dengan mikroorganisme dan faktor kuantitas tanpa mikroorganisme, selain itu dapat dilakukan penaksiran dengan kalkulasi probabilitas densitas asli

mikroorganisme pada sampel. Sampel dapat dibagi menjadi dua macam yaitu cair dan padat. Sampel cair tidak perlu dilakukan pengenceran sedangkan pada sampel padat perlu dilakukan pengenceran.

Teknik MPN merupakan teknik yang serbaguna dan dapat menyebutkan beberapa spesies mikroorganisme dengan menggunakan media kultur serta kondisi inkubasi yang berbeda. Teknik ini dapat digunakan untuk mendeteksi adanya mikroorganisme yang merugikan pada makanan dan mendeteksi layak dan tidaknya makanan makanan berdasarkan jumlah mikroorganisme (Krisnamurti & Chandrakirana, 2017). Pada metode MPN terdapat 2 pengujian yaitu uji penduga dan uji penegas.

2.3.1. Uji Penduga

Uji penduga digunakan untuk mengetahui ada tidaknya bakteri coliform dalam air isi ulang. Sampel difermentasikan pada media LB *(Lactose Broth)*. Pada media yang digunakan digunakan tabung durham. Adanya gelembung pada tabung durham menunjukkan diduga adanya bakteri *coliform* (Nurjannah & Novita, 2018).

Media LB *(Lactose Broth)* adalah media selektif untuk mendeteksi adanya bakteri *coliform.* Media ini digunakan karena bakteri dapat menggunakan laktosa sebagai sumber karbon. Kaldu laktosa mengandung *surface tension depressant* yang menekan pertumbuhan bakteri gram positif dan memacu pertumbuhan bakteri gram negatif terutama bakteri *coliform.* (Made & Sudirgayasa, 2020).

2.3.2. Uji Penegas

Uji penegas merupakan uji untuk memperkuat hasil dari uji sebelumnya, dengan menggunakan media selektif *Brilliant Green Lactose Bilebroth* (BGLB). Pada media yang digunakan ditambahkan tabung durham agar bisa diketahui ada atau tidaknya bakteri *coliform*. Adanya bakteri *coliform* ditandai dengan munculnya gas pada tabung durham (Nurjannah & Novita, 2018).

Media BGLB adalah media brilian berwarna hijau digunakan untuk meyakinkan bahwa hasil yang postif pada uji dugaan memang ditimbulkan oleh bakteri *coliform*. BGLB digunakan karena BGLB secara selektif untuk pertumbuhan bakteri *coliform* dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Penggunaan media BGLB digunakan pada tahap pengujian *(confirmed test)* penguat media ini digunakan sebagai media fertilisasi untuk bakteri *coliform*. Penggunaan komposisi medium yang mengandung laktosa dan garam empedu dapat mengaktifkan dan mendorong pertumbuhan bakteri *coliform* secara optimal (Supomo dkk, 2016).

2.3.3. Uji Biokimia

Uji Biokimia merupakan salah satu uji yang sering dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri. Uji ini dilakukan untuk mengetahui sifat-sifat fisiologis koloni bakteri dari hasil isolasi. Biokimia pada bakteri berhubungan dengan proses metabolisme sel bakteri. Uji biokimia dilakukan agar dapat menentukan genus atau spesies bakteri tertentu. Golongan bakteri sulit untuk dibedakan satu spesies dengan spesies lainnya karena memiliki variasi bentuk morfologi yang terbatas (basil, cocus dan spiral), sehingga perlu dilakukannya uji biokimia. Pada prinsipnya, uji biokimia dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereaksikan senyawa kimia sehingga menghasilkan senyawa kimia lain yang dikaitkan dengan sifat bakteri tersebut. Diperlukan suatu senyawa indikator atau reagen yang berbeda - beda, untuk mengetahui adanya reaksi tertentu (Rifai, 2021).

2.3.4. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram didefinisikan sebagai suatu metode agar dapat membedakan spesies bakteri mejadi dua kelompok besar berdasarkan sifat kimia dan fisik dari dinding selnya, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Metode pewarnaan merupakan salah satu cara untuk mengamati bentuk sel bakteri agars dapat di identifikasi dengan mudah. Metode ini bertujuan untuk mengetahui sifat fisiologis bakteri, yaitu reaksi dinding sel bakteri terhadap serangkaian proses pewarnaan, untuk memudahkan dalam melihat

bakteri dengan mikroskop, memperjelas bentuk serta ukuran bakteri, melihat struktur luar dan dalam dari bakteri (misalnya dinding sel), menghasilkan sifat fisik dan kimia yang khas pada bakteri dengan zat warna, dan juga meningkatkan kontras mikroorganisme terhadap sekitarnya (Widyasari & Azizah, 2025).

2.4. Analisis Air Minum Isi Ulang Dengan Metode MPN

Tabel 2. 2 Studi Kasus di tiga wilayah yang berbeda

Judul	Pengujian	Hasil
1). Analisis cemaran bakteri *coliform* dan *E.coli* pada Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di Tabanan Bali.	Uji Perkiraan	Sampel a dan sampel b positif pada pengenceran 10 ml replikasi 1, 2, 3 dan pengenceran 1 ml replikasi 1 dan 2.
	Uji Penegasan	Sampel a positif pada pengenceran 10 ml replikasi 1, 2, 3, dan positif pada pengenceran 1 ml replikasi 1 dan 2; sampel b positif pada pengenceran 10 ml replikasi 1 dan 2, dan positif pada pengenceran 1 ml replikasi 1 dan 2.
	Uji Pelengkap	Sampel a negatif ; sampel b positif pada pengenceran 10 ml replikasi 1 dan 2.
	Uji Pewarnaan Gram	Sampel a dan sampel b indeks nilai MPN per 100 ml *coliform* 93 dan *e.coli 0.*
2). Analisis *E.coli* dalam air minum isi ulang pada Depot Air Minum (DAM) di Wilayah Banda Aceh.	Uji penduga	Dari 13 sampel terdapat 5 sampel yang nilai MPN (per 100 ml) lebih dari 0, yaitu sampel F 20; sampel G 7; sampel J 11;sampel K 4; sampel M 4.
	Uji penguat	Kelima sampel mengandung bakteri

		coliform dan dua dari lima sampel positif mengandung bakteri *Escherichia coli* (sampel F dan sampel J).
	Uji pelengkap	Sampel yang digunakan adalah sampel F dan sampel J. Hasil positif pada uji ini adalah terbentuknya koloni berwarna hijau metalik pada medium EMBA. Sampel yang positif pada uji pelengkap selanjutnyya dikultur pada media Nutrient Agar (NA) untuk dilimpahkan jumlah koloninya dan masuk pada uji selanjutnya yaitu uji biokimia.
	Uji biokimia	Pada sampel F dan sampel J positif pada beberapa uji diantaranya yaitu, uji SIM motil dan indol, uji TSIA gas dan metil merah, dan pada semua uji fermentasi karbohidrat kecuali sakarosa.
3). Analisis cemaran *coliform* dan identifikasi *E.coli* dari Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di wilayah Semarang.	Uji MPN	Dari 11 sampel yang diteliti terdapat 4 sampel mengandung *Eschericia coli* yaitu sebesar 36%, dan yang negatif mengandung *Eschericia coli* adalah sebanyak 7 sampel yaitu sebesar 64%.