

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air merupakan hal yang paling diperlukan bagi manusia. Jumlah air yang dibutuhkan manusia untuk tetap hidup adalah 68% dan bervariasi antara 2,1 dan 2,8 liter per hari tergantung berat badan dan tingkat aktivitas. Namun pemenuhan kebutuhan air minum masyarakat saat ini beragam. Ada masyarakat yang memperoleh air minum dari berbagai sumber, seperti air sungai, air tanah melalui sumur dangkal atau sumur dalam, dan juga air pipa yang diproduksi oleh Pengelola Air Bersih (PAB). Umumnya, kebutuhan air minum masyarakat diupayakan oleh Pengelola Air Bersih yang dikelola oleh pemerintah untuk didistribusikan ke rumah-rumah penduduk, yang kemudian dikenal sebagai air ledeng oleh masyarakat.

Menurut peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/SK/IV/2010 adalah air minum yang sehat dan aman harus memenuhi persyaratan meliputi persyaratan fisik, kimia dan bakteriologis. Persyaratan bakteriologis untuk kualitas air minum ditentukan oleh adanya bakteri *Coliform* di dalam air. Syarat bakteriologis air minum menurut adalah air minum tidak boleh mengandung bakteri 1tati. Bakteri 1tati merupakan bakteri yang dapat menimbulkan penyakit, terutama pada saluran cerna. Salah satunya adalah bakteri *Coliform*.

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.736/MENKES/IV/2010 tentang Tata Laksana Pengawasan Kualitas Air Minum, bahwa pengawasan pada depot air minum harus sesuai dengan Peraturan Menteri Kesehatan yang mengatur tentang tata cara pengawasan kualitas air minum, yaitu harus dilakukannya pemeriksaan internal maupun eksternal secara berkala pada depot air minum. Kadar maksimum yang diperbolehkan untuk *Total Coliform* yang terdapat di dalam air minum yaitu 0 MPN/100 ml, kandungan bakteri *Escherecia Coli* dalam air minum yaitu 0/100 ml; oleh sebab itu Air bersih dan air minum tidak boleh melebihi persyaratan yangtelah ditentukan apabila dalam air minum dan air bersih sudah

tercemar bakteri *Escherecia Coli* maupun *Total Coliform* yang melebihi persyaratan maka akan menyebabkan penyakit diare.

Pemeriksaan terhadap kemungkinan adanya cemaran bakteri *Coliform* dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN). MPN *Coliform* merupakan suatu teknik untuk menentukan jumlah mikroorganisme dengan cara Angka Paling Mungkin, yang umumnya diterapkan dalam konteks sanitasi untuk menilai jumlah koloni *Coliform* dalam air, susu, dan bahan makanan lainnya. Metode MPN bermanfaat untuk mengestimasi jumlah bakteri yang mampu menghasilkan gas melalui fermentasi *laktosa*, seperti yang dilakukan oleh bakteri *Coliform*. Metode MPN merupakan metode yang paling sederhana untuk menguji kualitas air yang umumnya menggunakan satuan dalam 100ml dan dapat diartikan sebagai serangkaian perhitungan mikroorganisme dalam media cair tertentu dengan menggunakan tabung yang ditanam sehingga dihasilkan banyaknya jumlah perkiraan mikroorganisme yang tumbuh dalam satuan MPN. Semakin sedikit mikroorganisme yang tumbuh maka nilai MPN akan semakin baik yang diartikan sebagai air minum layak untuk dikonsumsi (Parnawan, 2023: 10).

Tambusai Tengah dan Tambusai Barat merupakan Desa yang terletak di Kecamatan Tambusai Kabupaten Rokan Hulu, memiliki geografi yang mempengaruhi cara penduduknya memenuhi kebutuhan air. Mayoritas penduduk Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat bergantung pada sumber air dari sungai, sumur, dan Pengelola Air Bersih (PAB). Selain itu, Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di desa juga menjadi sumber utama pasokan air minum bagi warga. Menariknya, pengelola DAMIU di Tambusai Tengah dan Tambusai Barat memiliki sumber air berbeda-beda yang digunakan, antara lain PAB dan sumur. Perbedaan ini menciptakan dinamika unik, mengingat masing-masing sumber air memiliki karakteristik dan kualitas yang berbeda. Ketertarikan peneliti muncul dari perbedaan ini, yang kemudian menjadi titik awal penelitian yang diusulkan. Penelitian yang direncanakan akan difokuskan pada Analisis *Total Coliform* pada air minum isi ulang (AMIU) yang bersumber dari sumur dengan sumber air yang dikelola oleh pengelola

air bersih (PAB) di Tambusai Tengah dan Tambusai Barat. *Total Coliform* dianggap sebagai parameter relevan dalam mengevaluasi aspek kebersihan dan keamanan air minum, terutama ketika melibatkan perbedaan signifikan dalam sumber air yang digunakan oleh DAMIU. Melalui penelitian ini, diharapkan dapat dihasilkan informasi mendalam mengenai kualitas air minum isi ulang di Tambusai Tengah dan Tambusai Barat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan permasalahan dalam penelitian ini adalah: Apakah ada atau tidaknya kandungan bakteri *Coliform* pada air minum isi ulang yang bersumber dari air sumur dengan pengelola air bersih di Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah: Untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan bakteri *Coliform* pada air minum isi ulang yang bersumber dari air sumur dengan pengelola air bersih di Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Meningkatkan kesadaran konsumen terhadap kualitas air minum isi ulang di wilayah mereka.
2. Memotivasi masyarakat untuk lebih teliti dalam pemilihan dan konsumsi air minum isi ulang, menjadikan mereka agen kesehatan pribadi.
3. Mendorong pemerintah setempat untuk memberikan perhatian ekstra dan meningkatkan pengawasan terhadap 3tatisti air minum isi ulang.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Minum

Air minum adalah salah satu kebutuhan dasar manusia yang harus dipenuhi untuk menjaga kesehatan. Air minum yang memenuhi persyaratan kesehatan adalah air yang aman untuk dikonsumsi dan tidak mengandung bahan berbahaya dan beracun (B3) yang dapat menimbulkan penyakit. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No.736/MENKES/IV/2010 mengatur tentang tata laksana pengawasan kualitas air minum. Peraturan ini merupakan salah satu upaya pemerintah untuk menjamin bahwa air minum yang dikonsumsi masyarakat memenuhi persyaratan kesehatan. Berdasarkan peraturan tersebut, air minum yang memenuhi persyaratan kesehatan harus memenuhi persyaratan fisika, kimia, dan bakteriologi

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia No. 429/MENKES/IV/2010 tentang Tata Laksana Pengawasan Kualitas Air Minum, pengawasan di depot air minum harus sesuai dengan ketentuan yang diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan terkait prosedur pengawasan kualitas air minum. Oleh karena itu, diperlukan pemeriksaan secara rutin baik secara internal maupun eksternal di depot air minum. Tingkat maksimum yang diperbolehkan untuk *Total Coliform* dalam air minum adalah 0 MPN/100 ml, sedangkan kandungan bakteri *Escherichia Coli* tidak boleh melebihi 0/100 ml. Oleh karena itu, air bersih dan air minum tidak boleh melampaui standar yang telah ditetapkan. Jika dalam air minum dan air bersih terdeteksi adanya bakteri *Escherichia Coli* atau *Total Coliform* melebihi batas yang telah ditentukan, hal ini dapat menyebabkan penyakit diare.

2.2 Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU)

Depot air minum adalah usaha 5tasti yang melakukan proses pengolahan air baku menjadi air minum dan menjual langsung kepada konsumen. Mesin dan peralatan produksi yang digunakan dalam depot air minum yaitu seluruh mesin dan peralatan yang kontak langsung dengan air harus terbuat dari bahan tara pangan (*foodgrade*), tahan korosi dan tidak bereaksi dengan bahan kimia. Mesin dan peralatan dalam proses produksi di depot air minum sekurang-kurangnya terdiri dari bak atau tangki penampung air baku serta unit pengolahan air (*water treatment*) antara lain *sand filter*, *carbon filter*, *microfilter*, alat desinfektan (ozonasi dan atau UV). Alat pengisian berupa kran *outlet* untuk memasukkan air minum ke dalam tempat atau wadah yang disediakan depot air minum atau wadah yang dibawa pembeli (Kepmenperindag, 2004: 2).

Urutan proses produksi pada depot air minum menurut Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan Republik Indonesia Nomor: 651/MPP/Kep/10/2004 tentang persyaratan teknis Depot air minum dan perdagangannya meliputi :

Penampungan air baku dan syarat bak penampung

Air baku yang diambil dari sumber nyadiangkut dengan menggunakan tangki dan selanjutnya ditampung dalam bak atau tangki penampung (*reservoir*). Bak penampung harus dibuat dari bahan tara pangan (*foodgrade*), harus bebas dari bahan-bahan yang dapat mencemari air. Tangki pengangkutan mempunyai persyaratan yang terdiri atas :

1. Khusus digunakan untuk air minum.
2. Mudah dibersihkan serta di desinfektan dan diberi pengaman.
3. Harus mempunyai *manhole*.
4. Pengisian dan pengeluaran air harus melalui kran.
5. Selang dan pompa yang dipakai untuk saluran air baku harus diberi penutup yang baik, disimpan dengan aman dan dilindungi dari kemungkinan kontaminasi.

2. Penyaringan/filtrasi bertahap terdiri dari:

- a. Saringan berasal dari pasir atau saringan lain yang efektif dengan fungsi yang sama. Fungsi saringan pasir adalah menyaring partikel-partikel yang kasar. Bahan yang dipakai adalah butir-butir *silica* (SiO_2) minimal 80%. Ukuran butir-butir yang dipakai ditentukan dari mutu kejernihan air yang dinyatakan dalam NTU.
- b. Saringan karbon aktif yang berasal dari batubara atau batok kelapa berfungsi sebagai penyerap bau, rasa, warna, sisa klorin dan bahan organik. Daya serap terhadap *Iodine* (I_2) minimal 75%
- c. Saringan lainnya yang berfungsi sebagai saringan halus berukuran maksimal 10 mikron.

3. Desinfeksi

Proses desinfeksi dimaksudkan untuk membunuh kuman patogen. Proses desinfeksi biasanya menggunakan UV dan ozon. Proses desinfeksi dengan menggunakan ozon (O_3) berlangsung dalam tangki atau alat pencampur ozon lainnya dengan konsentrasi ozon minimal 0,1 ppm dan residu ozon sesaat setelah pengisian berkisar antara 0,06-0,1 ppm. Tindakan desinfeksi selain menggunakan ozon, dapat dilakukan dengan cara penyinaran Ultraviolet (UV) dengan panjang gelombang 254 nm atau kekuatan 2537 ° A dengan intensitas minimum 10.000 mw detik per cm^2 .

4. Pembilasan

Pencucian dan Sterilisasi Wadah. Wadah yang dapat digunakan adalah wadah yang terbuat dari bahan tara pangan (*food grade*) dan bersih. Depot air minum wajib memeriksa wadah yang dibawa konsumen dan menolak wadah yang dianggap tidak layak untuk digunakan sebagai tempat air minum. Wadah yang akan diisi harus di sanitasi dengan menggunakan ozon (O_3) atau air ozon (air yang mengandung ozon). Apabila dilakukan pencucian maka harus dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis deterjen tara pangan (*food grade*) dan air bersih dengan suhu berkisar 60-85°C, kemudian dibilas dengan air minum/air produk secukupnya untuk menghilangkan sisa-sisa deterjen yang dipergunakan untuk mencuci.

5. Pengisian

Pengisian tempat air (wadah) dilakukan dengan menggunakan alat serta dilakukan dalam tempat pengisian yang higienis.

6. Penutupan

Penutupan tempat air (wadah) dapat dilakukan dengan tutup yang dibawa konsumen dan atau yang disediakan oleh depot air minum.

2.3 Pengelola air bersih (PAB)

Pengelola Air Bersih (PAB) mempunyai tugas pokok dalam hal penyediaan sarana, prasarana dan pengelolaan air bersih untuk masyarakat dengan maksud untuk meningkatkan kesejahteraan masyarakat yang mencakup aspek Sosial, Kesehatan dan Pelayanan Umum. Sumber air bersih di Kabupaten Rokan Hulu dikelola oleh Dinas Tata Ruang Dan Cipta Karya yang di beri nama dengan Unit Pelaksana Teknik Dinas Pengelolaan Air Bersih (UPTD-PAB). UPTD-PAB yang berada di Kabupaten Rokan Hulu ini mempunyai 11 (sebelas) buah Unit Pelayanan Teknis (UPT), yaitu Ujung Batu, Pasir Pengaraian, Tambusai Tengah, Tandun, Rambah Hilir, Pagaran Tapah, Kabun, Rambah Samo, Kota Lama, Bangun Purba dan Kepenuhan. Sumber air baku PAB yang berada di Kabupaten Rokan Hulu ini berasal dari Sungai Rokan Kiri, Sungai Batang Lubuh Sungai Tapung, Sungai Rokan, Sungai Ngaso. Sedangkan sumber air baku Unit PAB Tambusai Tengah berasal dari sungai Batang Sosah (Aisyah, 2017: 44)

2.4 Bakteri *Coliform*

Bakteri *Coliform* merupakan bakteri gram negatif yang heterogen dengan habitat alaminya adalah di saluran cerna manusia dan hewan. Familinya terdiri dari beberapa genus diantaranya *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Proteus* dan lain-lain. Golongan bakteri *Coliform* adalah *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli*, dan *Klebsiella*. Bakteri *Coliform* fakultatif aerob maupun anaerob dan dapat memfermentasikan karbohidrat serta menghasilkan toksin dan faktor

virulensi lainnya. Bakteri *Coliform* adalah suatu kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi dan kondisi yang tidak baik terhadap makanan dan minuman (Dwi, 2022: 7).

Adanya bakteri *Coliform* dapat menjadi indikator dari kontaminasi fekal. *Escherichia coli* (*E.coli*), bakteri yang banyak ditemukan di usus manusia merupakan indikator adanya kontaminasi fekal dari manusia. Selain *Escherichia coli*, *Coliform* lainnya seperti *Enterobacter aerogenes*, berasal dari *non-fecal* mungkin ditemukan dalam sampel air (BPOM RI, 2008: 3).

2.5 Metode Most Probable Number (MPN)

Most Probable Number (MPN) adalah metode enumerasi mikroorganisme yang menggunakan data dari hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair spesifik dalam seri tabung yang ditanam dari sampel padat atau cair sehingga dihasilkan kisaran jumlah mikroorganisme dalam jumlah perkiraan terdekat. Bakteri *Coliform* dalam sumber air merupakan indikasi pencemaran air. Dalam penentuan kualitas air secara bakteriologi kehadiran bakteri tersebut ditentukan berdasarkan tes tertentu yang umumnya menggunakan tabel atau yang lebih dikenal dengan nama (MPN). Metode MPN merupakan metode yang paling sederhana untuk menguji kualitas air yang umumnya menggunakan satuan dalam 100ml dan dapat diartikan sebagai serangkaian perhitungan mikroorganisme dalam media cair tertentu dengan menggunakan tabung yang ditanam sehingga dihasilkan banyaknya jumlah perkiraan mikroorganisme yang tumbuh dalam satuan MPN. Semakin sedikit mikroorganisme yang tumbuh maka nilai MPN akan semakin baik yang diartikan sebagai air minum layak untuk dikonsumsi (Parnawan, 2023: 10).

Uji kualitatif *Coliform* terdiri dari tiga tahapan, yaitu uji pendugaan (*presumptive test*), uji penegasan (*confirmed test*), dan uji pelengkap (*completed test*) (Martani, 2020).

1. Uji pendugaan (*presumptive test*)

Pemeriksaan ini dilakukan untuk menduga adanya bakteri *Coliform* dalam sampel air. Uji dilakukan menggunakan media *Lactose Broth* yang terdapat tabung Durham di dalamnya. Terbentuknya gas ($\geq 10\%$) pada tabung Durham menunjukkan hasil yang positif, karena gas dihasilkan dari bakteri *Coliform* yang dapat memfermentasi laktosa.

2. Uji penegasan (*confirmed test*)

Uji penegasan menggunakan media selektif BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*) yang mengandung *ox-bile* dan *brilliant green* yang menghambat pertumbuhan bakteri gram positif yang dapat memfermentasi laktosa (Martani, 2020). Hasil positif pada uji pendugaan selanjutnya dilakukan uji penegasan menggunakan tabung yang berisi media BGLB dan diinkubasi pada 37°C selama 48 jam. Jumlah tabung yang positif dicocokkan pada tabel MPN yang sesuai dengan jumlah seri tabung yang digunakan.

3. Uji pelengkap (*completed test*)

Analisis akhir dari pemeriksaan ini bertujuan untuk mendeteksi adanya bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode pengecatan Gram pada koloni yang tumbuh pada media EMB. Tumbuhnya bakteri *E.coli* ditandai dengan adanya koloni berwarna hijau metalik dan jika dilakukan pengamatan mikroskopis menunjukkan bakteri dengan bentuk basil, gram negatif, dan tidak memiliki spora.

2.6. Penelitian yang Relevan

Beberapa penelitian yang relevan mengenai pencemaran *Coliform* pada air minum isi ulang yang telah banyak dilaporkan. Diantaranya penelitian Rahmawati, Akas, dan Edza (2021; 160-166) dengan judul Analisis Kualitas Mikrobiologi Air Minum Isi Ulang di Depo Air Minum Isi Ulang Kelurahan Jemur Wonosari Kota Surabaya, hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 13 sampel didapati ke 13 sampel tersebut positif *Coliform*. Menurut Permenkes No. 429 tahun 2010 batas maksimal

dalam per 100 ml sampel adalah 0. Jadi ke 13 sampel air minum isi ulang berdasarkan parameter mikrobiologi yaitu *E.coli* pada air minum isi ulang memenuhi standart sedangkan pada *Coliform* tidak memenuhi standart.

Penelitian Rosmini, Budiman, dan Andri (2022: 759-762) dengan judul Analisis Bakteri *Escherichia Coli* pada Depot Air Minum Isi Ulang di Kelurahan Tanjung Batu Kecamatan Banawa Kabupaten Donggala, hasil penelitiannya menunjukkan bahwa dari 5 depot air minum isi ulang, Depot S, Depot BG, Depot OR, Depot O, Depot 99 semuanya tidak ada kandungan *Escherichia Coli* dan *Total Coliform*. Berarti depot air minum isi ulang di Kelurahan Tanjung Batu Kecamatan Banawa Kabupaten Donggala aman untuk dikonsumsi.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif analitik yang merupakan metode untuk mendeskripsikan suatu objek penelitian melalui data atau sampel yang dikumpulkan, (Sugiyono, 2013: 147).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga juni 2024, di Kelurahan Tambusai Tengah dan desa Tambusai Barat, untuk analisis *Total Coliform* dilakukan di Laboratorium Dinas Lingkungan Hidup Kabupaten Rokan Hulu.

3.3 Populasi dan sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah semua depot air minum isi ulang yang ada di Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat, Kabupaten Rokan Hulu yang berjumlah 6 depot. Sampel dalam penelitian ini adalah semua depot air minum isi ulang yang ada di Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat, Kabupaten Rokan Hulu yakni berjumlah 6 sampel air minum. Pengambilan sampel penelitian menggunakan teknik *Total Sampling* yaitu teknik pengambilan sampel dimana jumlah populasi dan sampel itu sama.

Tabel 1. Depot air minum Di Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat

No	Depot Air Minum	Lokasi
1	Depot 1 (TB1)	Tambusai Barat
2	Depot 2 (TB2)	Tambusai Barat
3	Depot 3 (TB3)	Tambusai Barat
4	Depot 4 (TA1)	Tambusai Tengah
5	Depot 5 (TA2)	Tambusai Tengah
6	Depot 6 (TA3)	Tambusai Tengah

3.4 Teknik Pengumpulan Data

3.4.1 Alat dan Bahan

Beberapa peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *erlenmeyer*, tabung reaksi, tabung durham, gelas ukur, *hotplate*, rak tabung reaksi, batang pengaduk kaca, labu ukur, jarum ose, *autoclave*, botol kaca, *incubator*, pipet volume, timbangan analitik, Bunsen, kapas, kasa dan termos. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah LB (*Lactose Broth*), BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*), sampel air minum isi ulang, air murni (*Aquades*).

3.4.2 Cara Kerja

3.4.2.1 Di Lapangan

Langkah awal yang dilakukan di lapangan adalah dilakukan *survey* untuk mengetahui berapa depot air minum isi ulang yang ada di Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat. Setelah melakukan *survey* dilanjut dengan mengambil sampel air minum isi ulang. Adapun langkahnya yaitu: pertama, sterilkan botol kaca yang akan digunakan sebagai wadah sampel air minum dengan cara direbus dalam air mendidih (100°C) selama 10 menit; Kedua, membeli air minum isi ulang dari dua depot dengan menggunakan galon sebagai wadahnya; Ketiga, menuangkan air minum isi ulang dari galon ke dalam botol kaca dengan mendekatkan mulut galon ke mulut botol kaca; Keempat, menutup kembali botol kaca dan beri label; Kelima, masukkan botol kaca dalam box atau termos yang berisi es sebelum sampel sampai ke laboratorium; Sampel air minum isi ulang yang telah didapat, kemudian dibawa ke Laboratorium Dinas Lingkungan Hidup untuk diuji kandungan bakteri *Coliform*.

3.4.2.2 Di Laboratorium

Untuk melakukan Analisis *Total Coliform* pada air minum isi ulang yang bersumber dari air sumur dengan air dari Pengelola Air Bersih (PAB) di Dalu-dalu Kelurahan Tambusai Tengah dan Desa Tambusai Barat, Kabupaten Rokan Hulu,

analisis dilakukan melalui dua tahap penting, yakni uji pendugaan dan uji penegasan. Hal ini dikarena tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk menentukan keberadaan bakteri *Coliform*. Analisis ini menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) yang merupakan pendekatan standar untuk menghitung bakteri *Coliform*.

Sebelum memulai pengujian, dilakukan persiapan awal dengan membuat reagen LB (*Lactose Broth*) dan BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*), yang merupakan langkah krusial dalam proses analisis. Berikut adalah langkah-langkah yang dilakukan dalam pembuatan kedua reagen ini:

Preparasi Alat dan Bahan: Siapkan semua peralatan dan bahan yang diperlukan, termasuk menimbang 13,0 gram LB dan 40 gram BGLB untuk setiap satu liter air murni.

1. Pengukuran Air: Tuang air murni ke dalam gelas ukur dengan takaran 250 ml. Kemudian, air tersebut dituang ke dalam *Erlenmeyer* yang sudah berisi LB dan BGLB.
2. Pencampuran Reagen: Aduk campuran hingga LB dan BGLB terlarut sepenuhnya. Tutup *Erlenmeyer* menggunakan kapas, lalu panaskan di atas *hotplate* hingga mendidih.
3. Pendinginan Reagen: Setelah mendidih, biarkan reagen mendingin sampai mencapai suhu ruangan.
4. Persiapan Tabung Reaksi: Siapkan tabung reaksi dalam rak, dan masukkan tabung Durham secara terbalik ke dalamnya.
5. Pengisian Tabung Reaksi: Setelah reagen mendingin, tuangkan ke dalam tabung reaksi yang sudah disiapkan. Goyangkan tabung reaksi agar reagen mengalir ke dalam tabung Durham.
6. Penutupan Tabung Reaksi: Tutup tabung reaksi menggunakan kombinasi kapas dan kasa.

7. Sterilisasi *Autoclave*: Letakkan tabung reaksi dalam *autoclave* dan sterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah itu, matikan *autoclave* dan biarkan suhu dan tekanan turun sebelum membuka *autoclave*.

Proses ini memastikan bahwa reagen siap digunakan dalam pengujian bakteri *Coliform*, mengikuti protokol yang ditetapkan untuk mendapatkan hasil yang akurat dan dapat diandalkan.

a) Uji Pendugaan

Setelah pembuatan reagen LB dan BGLB, langkah berikutnya yang dilakukan adalah melaksanakan uji pendugaan. Tujuan utama dari uji ini adalah untuk mengukur keberadaan bakteri *Coliform* dalam sampel air minum isi ulang. Pentingnya sterilisasi menjadi prioritas utama dalam setiap komponen yang digunakan, termasuk peralatan dan media, selama proses uji ini.

Tahapan pelaksanaan uji pendugaan adalah sebagai berikut:

1. Pembukaan dan Sterilisasi Tabung Reaksi: Buka tutup tabung reaksi dan sterilkan ujungnya dengan menggunakan nyala api bunsen untuk mencegah kontaminasi bakteri eksternal.
2. Penambahan Sampel Air: Menggunakan pipet ukur, masukkan 20 ml sampel air ke dalam masing-masing dari lima tabung reaksi yang disediakan.
3. Sterilisasi Ulang dan Penutupan Tabung: Sterilkan kembali ujung tabung reaksi dengan api bunsen sebelum menutupnya kembali menggunakan kasa dan kapas untuk menjaga kondisi steril.
4. Inkubasi: Letakkan tabung reaksi dalam inkubator yang telah disetel pada suhu 35°C dan biarkan selama dua hari.
5. Observasi: Setelah masa inkubasi, keluarkan tabung reaksi dari inkubator dan lakukan pengamatan untuk mengecek keberadaan gelembung udara dalam tabung Durham. Kehadiran gelembung menunjukkan hasil positif untuk *Coliform*,

sedangkan ketiadaan gelembung atau gas mengindikasikan tidak adanya bakteri *Coliform* dalam sampel yang diuji.

Prosedur ini memastikan bahwa analisis bakteri *Coliform* dalam air minum isi ulang dilakukan dengan metode yang akurat dan higienis.

a) Uji Penegasan

Apabila tabung Durham menunjukkan hasil positif untuk bakteri *Coliform*, langkah berikutnya yang adalah Penegasan menggunakan reagen BGLB. Tujuan dari uji ini adalah untuk memvalidasi dan memperkuat hasil yang telah diperoleh pada tahap uji pendugaan sebelumnya. Pada tahap ini, tabung yang menunjukkan pembentukan gas atau gelembung dan telah dinyatakan positif akan diinokulasi untuk analisis lebih lanjut.

Berikut adalah prosedur untuk uji Penegasan:

1. Sterilisasi dan Inokulasi: Pertama, panaskan jarum ose hingga membara, kemudian celupkan ke dalam tabung reaksi yang telah menunjukkan hasil positif untuk *Coliform*. Pindahkan sampel tersebut ke dalam tabung yang berisi reagen BGLB dengan mengose sebanyak dua kali.
2. Sterilisasi Ulang dan Penutupan Tabung: Setelah itu, sterilkan ujung tabung reagen BGLB yang telah diinokulasi dengan api bunsen dan tutup kembali dengan gumpalan kapas untuk menjaga kesterilan.
3. Inkubasi Ulang: Inkubasi tabung tersebut dalam inkubator pada suhu 35⁰ C selama satu hari.
4. Pengamatan Hasil: Langkah terakhir dalam proses konfirmasi ini adalah mengamati tabung setelah inkubasi untuk memeriksa apakah masih terdapat gelembung dalam tabung Durham.

Prosedur ini memastikan bahwa hasil uji pendugaan awal dikonfirmasi dengan akurat, meminimalisasi kemungkinan kesalahan dalam mengidentifikasi keberadaan

bakteri *Coliform* dalam sampel. Kemudian hasil pengamatan dihitung dan dimasukkan pada tabel MPN (*Most Probable Number*) (Standard Methods, 2012: 9-48).

3.5 Analisa Data

Analisa data menggunakan teknik statistik deskriptif, dengan cara data hasil penelitian akan disajikan dalam bentuk tabel untuk melihat ada atau tidaknya *Total Coliform* pada air minum isi ulang yang kemudian mendeskripsikan hasil penelitian.