

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air memiliki peran krusial dalam kelangsungan hidup manusia. Memastikan penyediaan air minum yang bersih dan mencukupi menjadi aspek yang sangat signifikan dalam kehidupan sehari-hari. Sejalan dengan pertumbuhan penduduk, perkembangan industri, perluasan permukaan tanah, dan peningkatan taraf hidup. Kebutuhan akan air minum semakin meningkat, air minum yang dikonsumsi seharusnya bebas dari kuman patogen dan organisme yang berpotensi merugikan kesehatan manusia.

Sebelum adanya usaha air minum isi ulang, untuk menjamin kebersihan air yang akan dikonsumsi, masyarakat umumnya menggunakan metode tradisional dengan merebus atau mendidihkan air minum. Tindakan ini memiliki tujuan utama untuk mengeliminasi bakteri yang mungkin terdapat di dalam air. Dengan perubahan pola konsumsi air yang telah terjadi seiring berjalannya waktu, Saat ini banyak masyarakat dan penduduk cenderung memilih kemudahan dan kepraktisan air minum isi ulang. Meskipun demikian, perlu diingat bahwa kebanyakan dari mereka mengandalkan air galon isi ulang, yang tidak dapat terjamin kebebasan total dari potensi kontaminasi bakteri.

Masyarakat yang mengandalkan air minum isi ulang sebagai sumber kebutuhan harian seringkali tidak memiliki pemahaman yang memadai terkait kebersihan air yang mereka konsumsi, termasuk apakah air tersebut terkontaminasi oleh bakteri atau tidak, khususnya *Coliform*. Meskipun beberapa usaha air minum isi ulang menerapkan metode perebusan atau pemasakan, namun masih terdapat kemungkinan adanya air minum yang mengalami pencemaran. Menurut Trisenang (2023: 429), pengolahan air minum isi ulang Usaha Air Rebusan (UAR) hingga saat ini belum memiliki standar proses pengolahan *higiene* sanitasi UAR namun karna peminat air rebusan makin meningkat otomatis usaha rumahan ini berkembang dengan pesat. Hal ini sesuai dengan hasil penelitiannya yang menyatakan bahwa

sebanyak 38 sampel terdapat 26,3% yang mengandung bakteri *Coliform* yang berarti bahwa air UAR tercemar oleh zat organik yang berasal dari hewan atau tanaman yang telah mati.

Untuk menjamin keamanan dan kelayakan air minum, kriteria kualitas air perlu dipenuhi, seperti dalam aspek bakteriologis. Salah satu kriteria bakteriologis yang harus diperhatikan adalah keberadaan bakteri *Coliform* dalam air. Oleh karena itu, agar air minum dianggap aman, penting untuk memastikan bahwa air tersebut bebas dari mikroba patogen. Bakteri *Coliform* adalah golongan bakteri yang memiliki korelasi signifikan dengan tingkat kebersihan dalam pengolahan pangan, sehingga golongan ini sering digunakan sebagai indikator kebersihan dalam proses pengolahan pangan (Surono, 2016: 60). Bakteri *Coliform* terbagi menjadi 2 tipe yakni *Fecal Coliform* yang berasal dari kotoran hewan dan manusia (tinja), dan *Nonfecal Coliform* yang berasal dari tumbuhan dan hewan yang sudah mati. Menurut Regia (2019: 76) ketika tingkat bakteri *Coliform* meningkat, ini dapat menandakan bahwa resiko kehadiran bakteri berbahaya lainnya juga meningkat di tempat-tempat yang terpapar oleh limbah manusia dan hewan. Kehadiran *Coliform* menjadi fokus utama dalam mengevaluasi standar kebersihan air minum.

Untuk mendeteksi bakteri *Coliform* dapat dilakukan dengan menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) dan tabel yang disediakan untuk memperkirakan jumlah bakteri *Coliform* dalam 100 mL sampel air yang memberikan hasil positif atau negatif. Menurut Irianto (2008: 53) MPN adalah cara perhitungan bakteri yang paling umum digunakan. Cara ini secara luas digunakan untuk menghitung bakteri hidup dalam berbagai cairan seperti air, susu, biakan cair dan sebagainya.

Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir yang terletak di Kabupaten Rokan Hulu menjadi salah satu lokasi berdirinya berbagai depot air minum isi ulang yang banyak diakses oleh penduduk setempat. Tingginya minat warga pada air minum isi ulang ini menjadi fenomena yang mendorong berkembangnya bisnis air minum isi ulang di area permukiman yang padat. Keberadaan depot air minum isi ulang menjadi pilihan

utama masyarakat, karna tidak hanya lebih efisien tetapi juga menawarkan harga yang lebih terjangkau.

Berdasarkan penjelasan di atas, maka penulis tertarik untuk melakukan penelitian yang berjudul Analisis Uji *Total Coliform* Pada Air Minum Isi Ulang Yang Direbus Dan Tidak Direbus Dengan Metode MPN (*Most Probable Number*) di Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan permasalahan dalam penelitian ini yaitu: Apakah terdapat *Coliform* pada air minum isi ulang yang telah direbus dan yang tidak direbus dengan metode MPN (*Most Probable Number*) di Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir ?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah terdapat *Coliform* pada air minum isi ulang yang telah direbus dan yang tidak direbus dengan metode MPN (*Most Probable Number*) di Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Menyampaikan informasi yang jelas kepada konsumen tentang pentingnya pengolahan air minum yang baik untuk menghindari risiko kesehatan yang terkait dengan *Total Coliform*.
2. Dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air Minum

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 43 Tahun 2014 tentang *Higiene* Sanitasi Depot Air Minum, menyatakan bahwa air minum adalah air yang melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum. Pengertian air minum juga dapat dilihat dari Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 736 Tahun 2010 tentang pengawasan kualitas air minum, dalam keputusan tersebut dinyatakan bahwa air yang melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum. Maka dapat diartikan bahwa air minum dapat berasal dari berbagai sumber seperti sungai, sumur, mata air dan air hujan serta tidak menyebabkan penyakit.

Jenis air minum, menurut Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 907/MENKES/SK/VII/2002 tentang syarat-syarat dan pengawasan kualitas air minum adalah :

1. Air yang didistribusikan melalui pipa untuk keperluan rumah tangga.
2. Air yang didistribusikan melalui tangki air
3. Air kemasan
4. Air yang digunakan untuk produksi bahan makanan dan minuman yang disajikan kepada masyarakat

Air yang layak untuk diminum telah diatur dalam Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010 mengenai persyaratan air minum, yang mencakup beberapa parameter sebagai berikut:

1. Parameter Fisik

Kualitas air harus jernih, tanpa bau, tanpa rasa, dan bebas dari zat padat. Meskipun terlihat bening, air yang berkualitas seharusnya tidak mengandung zat padat. Keberadaan padatan terapan dalam air dapat merusak kualitasnya, sehingga

tidak disarankan untuk diminum. Selain itu, suhu air minum harus sesuai dengan suhu ruangan untuk memastikan kualitasnya.

2. Parameter Kimia:

Parameter ini meliputi segala hal yang berkaitan dengan senyawa atau logam yang dapat menimbulkan risiko kesehatan. Oleh karena itu, air minum seharusnya tidak mengandung bahan kimia seperti zat organik, kesadahan, kalsium, besi, mangan, tembaga, klorida, nitrit, dan logam lainnya.

3. Parameter Mikrobiologi:

Air minum harus terbebas dari bakteri patogen dan parasit yang dapat membahayakan kesehatan. Hal ini tercermin dalam ketiadaan bakteri *Coliform* di dalam air minum, dengan batas maksimum yang diizinkan 0 dalam setiap 100 mL. Bakteri *Coliform* digunakan sebagai indikator keberadaan pencemaran tinja dalam air.

4. Parameter Radioaktif:

Parameter ini mengacu pada pembatasan terhadap keberadaan zat radioaktif dalam air sesuai dengan standar kesehatan. Termasuk dalam pembatasan ini adalah jenis dan jumlah radioaktivitas yang diperbolehkan dalam air minum.

2.2 Air Minum Isi Ulang

1. Definisi AMIU

Air minum isi ulang merupakan air baku yang telah diolah tanpa melalui proses pemanasan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum, sesuai dengan peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010.

Menurut peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 736 Tahun 2010 tentang pengawasan kualitas air minum, yang menyatakan bahwa penyelenggara air minum adalah badan usaha milik negara/badan usaha milik daerah, koperasi, badan usaha swasta, usaha perorangan, kelompok masyarakat dan/atau individual yang melakukan penyelenggaraan penyediaan air minum. Menurut peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 43 Tahun 2014 tentang *Higiene* Sanitasi Depot Air Minum, menyatakan 416/MENKES/PER/IX/1990 bahwa depot air minum adalah usaha yang melakukan proses pengolahan air baku menjadi air minum dalam bentuk curah dan menjual langsung kepada konsumen.

Menurut PERMENKES, menyatakan bahwa air bersih merupakan air yang digunakan dalam keperluan hidup manusia sehari-hari dan dapat dijadikan sebagai air minum setelah direbus terlebih dahulu. Memasak berarti membunuh kuman patogen didalamnya. Karena setelah air terbebas dari patogen yang berarti telah memenuhi syarat-syarat bakteriologis, dan kemudian setelah direbus menjadi air minum, maka dapat diasumsikan bahwa persyaratan air bersih lainnya telah memenuhi atau sama dengan syarat air minum.

2. Pengolahan Air Minum Isi Ulang

Untuk memperoleh air minum berkualitas baik, diperlukan proses pengolahan dan pemurnian agar mencapai standar kualitas yang diharapkan. Proses pengolahan air minum ini sangat bergantung pada kualitas air mentah dan peralatan yang digunakan. Prinsip dasar pengolahan air minum isi ulang pada setiap produsen umumnya sama, yaitu menghilangkan bau, rasa, warna, bahan kimia berbahaya, dan mikroorganisme.

Berdasarkan Keputusan Menteri perindustrian dan perdagangan RI Nomor 651/MPP/Kep/10/2004 tentang persyaratan teknis depot air minum dan perdagangannya, urutan proses produksi air minum di Depot diatur sebagai berikut: Pertama penampungan, air baku dan syarat bak penampung, air baku yang diambil dari sumbernya diangkutnya dengan menggunakan tangki dan selanjutnya ditampung dalam bak atau tangki penampung (*reservoir*). Bak penampung harus dibuat dari bahan tara pangan (*food grade*), harus bebas dari bahan-bahan yang dapat mencemari air. Tangki pengangkut mempunyai persyaratan yang terdiri atas:

1. Khusus digunakan untuk air minum
2. Mudah dibersihkan serta didesinfektan dan diberi pengamanan
3. Harus mempunyai *manhole*
4. Pengisian dan pengeluaran air harus melalui keran
5. selang dan pompa yang dipakai untuk bongkar muat air baku harus diberi penutup yang baik, disimpan dengan aman dan dilindungi dari kemungkinan kontaminasi. Tangki, selang, pompa dan sambungan harus terbuat dari bahan tara pangan (*food grade*), tahan korosi dan bahan kimia yang dapat mencemari air. Tangki pengangkutan harus dibersihkan, disanitasi dan desinfeksi bagian luar dan dalam 3 (tiga) bulan sekali.

Kedua penyaringan, yang terdiri dari 3 tahapan. Hal ini untuk menyaring kotoran dalam air. Jenis saringan nya sebagai berikut:

- 1) 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 butiran-butiran *silica* (SiO_2) minimal 80%. Ukuran butir-butir yang dipakai ditentukan dari mutu kejernihan air yang dinyatakan dalam NTU.
- 2) Saringan karbon aktif yang berasal dari batu bara atau batok kelapa berfungsi sebagai penyerap bau, rasa, warna, sisa klorin dan bahan organik. Daya serap terhadap *Iodine* (I_2) minimal 75%.

- 3) Saringan lainnya yang berfungsi sebagai saringan halus berukuran maksimal (sepuluh) *micron*.

Ketiga desinfeksi, desinfeksi dimaksudkan untuk membunuh kuman patogen. Proses desinfeksi dengan menggunakan ozon (O_3) berlangsung dalam tangki atau alat campur 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 *Ultra Violet* (UV) dengan panjang gelombang 254 nm atau kekuatan 2537 Å dengan intensitas minimum 10.000 mw detik per cm^2 .

- 1) 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). Bilamana 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.

- 2) Pengisian, pengisian ketempat air (wadah) dilakukan dengan menggunakan alat serta dilakukan dalam tempat pengisian yang higienis.
- 3) Penutupan, penutupan tempat air (wadah) dapat dilakukan dengan tutup yang dibawa konsumen dan atau yang disediakan oleh depot air minum.

2.3 Bakteri *Coliform*

Bakteri *Coliform* memiliki sifat sebagai kelompok bakteri yang fakultatif aerobik atau aerobik, gram negatif, dan berbentuk batang. Mereka mampu mengfermentasi laktosa, menghasilkan asam, dan gas pada suhu 35 °C selama 48 jam. Di antara sekitar 20 spesies bakteri dalam kelompok *Coliform*, beberapa tidak

termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. Penggunaan kelompok *Coliform* sebagai indikator kebersihan dalam pengolahan pangan erat kaitannya dengan tingkat kebersihan tersebut.

Bakteri patogen umumnya berasal dari kotoran manusia dan hewan. Oleh karena itu, kelompok *Coliform* yang digunakan sebagai indikator berasal dari habitat yang sama, yaitu kotoran hewan dan manusia. Meskipun *Coliform* umumnya berasal dari kotoran manusia dan hewan, terdapat kelompok yang lebih tahan panas, dikenal sebagai *fecal Coliform* atau *thermotolerant Coliform*. *Fecal Coliform* dapat mengfermentasi laktosa dan menghasilkan asam serta gas pada suhu 45 °C selama 48 jam. Secara umum, kelompok ini didominasi oleh *strain E. coli* dan dianggap sebagai indikator keamanan pangan karena keberadaannya dapat mencapai 10⁵ – 10⁹ CFU/g dalam kotoran hewan.

Secara alami, bakteri *Coliform* juga hadir dalam air dalam jumlah tertentu. Namun, jika terjadi pencemaran air, jumlah *Coliform* dapat melebihi ambang batas dan mendahului jumlah patogen lainnya. Oleh karena itu, jika jumlah bakteri *Coliform* melebihi ambang batas, perlu dilakukan pengecekan keberadaan bakteri patogen lainnya. Pengukuran jumlah bakteri yang mencemari bahan pangan, air, dan makanan umumnya dilakukan dengan mengkultur pada media pertumbuhan yang sesuai. Metode ini dikenal sebagai *culture-dependent*, di mana sel-sel yang membentuk koloni pada media spesifik mencerminkan jumlah bakteri hidup, diukur dalam satuan koloni pembentuk unit (CFU) per gram atau per mililiter, tergantung pada jenis bahan makanan yang diuji, baik dalam bentuk padat atau cairan (Suroño, 2018: 59).

2.4 Metode *Most Probable Number* (MPN)

Metode *Most Probable Number* (MPN) merupakan perhitungan bakteri hidup yang dilakukan dengan cara seri pengenceran. Cara ini secara luas digunakan untuk menghitung bakteri hidup dalam berbagai cairan seperti air, susu, biakan cair dan sebagainya. Serentetan pengenceran dibuat untuk kemudian ditanam dalam medium

pembiakan *bulyon agar* dan setelah inkubasi jumlah koloni dihitung. Setelah dikonversi sesuai dengan pengencerannya, akan diketahui jumlah bakteri per milliliter. Karena pengenceran dikerjakan secara lipat ganda, maka angka yang diperoleh hanya angka perkiraan (Irianto, 2008: 53).

Untuk mendeteksi bakteri *Coliform* dapat dilakukan menggunakan metode MPN, dan tabel yang disediakan berguna untuk memperkirakan jumlah bakteri *Coliform* dalam 100 mL sampel air yang memberikan hasil positif pada uji penduga, uji penegas, dan uji pelengkap. Informasi ini menjadi panduan yang bermanfaat dalam mengevaluasi kejernihan dan standar kualitas air (Utami, 2020: 22).

Menurut Alifia dan Aji (2021: 75) 3 tahap tersebut sebagai berikut: Tahapan pengujian Coliform mencakup uji pendugaan dan uji penegasan dengan menerapkan pola 5-5-5.

1. Uji Pendugaan (*Presumptive Test*):

Sampel sebanyak 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL dimasukkan ke dalam media LB (*Lactose Broth*) dengan mematuhi pola 5-5-5. Setelah disiapkan, sampel ditambahkan pada media dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 1 x 24 jam. Keberhasilan uji ini ditunjukkan oleh adanya gelembung gas yang mencapai >10% di tabung Durham dan perubahan warna atau kekeruhan pada media.

2. Uji Penegasan (*Confirmative Test*):

Menggunakan media BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*), uji ini dilakukan setelah hasil positif dari uji pendugaan. Sampel dimasukkan ke dalam media BGLB dan diinkubasi pada suhu 35°C selama 1 x 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya gelembung gas >10% di tabung durham dan perubahan warna atau kekeruhan pada media. Jumlah tabung yang positif dicatat dan digunakan untuk menentukan jumlah bakteri berdasarkan tabel MPN (*Most Probable Number*).

3. Uji Keberadaan *E. Coli*:

Bila hasil uji penegasan menunjukkan positif, langkah selanjutnya adalah uji keberadaan *E. Coli*. Suspensi bakteri dari tabung positif diambil dengan menggunakan ose dan ditanam pada media EMB (*Eosin Methylene Blue*) menggunakan teknik *streak*, lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 1 x 24 jam. Identifikasi positif dicirikan oleh adanya koloni berwarna hijau metalik. Hasil positif dicatat dan dipadankan dengan tabel MPN, dihitung berdasarkan urutan tabung hasil uji penegasan pada media BGLB yang ditanam pada media EMB agar.

2.5 Penelitian yang relevan

Beberapa laporan hasil penelitian yang relevan yang membahas masalah pencemaran *Coliform* dalam air minum isi ulang. Diantaranya penelitian penelitian Purhadi, Lufianti, Susanti (2017: 1-7) dengan judul penelitian Perbedaan antara air minum yang direbus dengan air minum ultraviolet terhadap adanya bakteri *Escherichia Coli* di Kecamatan Karangrayung Kabupaten Grobogan menunjukkan 10 sampel yang diuji tidak ada perbedaan antara air minum dengan perlakuan direbus dan air minum dengan ultraviolet terhadap keberadaan bakteri *E. Coli*. Uji *manwithney* rata-rata keberadaan bakteri *E. Coli* pada air masak 5.50 dan dengan ultraviolet 5.50 dengan nilai sig $1.000 > 0,05$ jadi didapatkan kesimpulan tidak ada perbedaan antara air minum dengan perlakuan direbus dan air minum dengan ultraviolet terhadap keberadaan bakteri *E. Coli*.

Penelitian Trisenang, Kalsums, Rindes (2023: 429-431) dengan judul penelitian Analisis Kualitas Air Isi Ulang Usaha Air Rebusan (UAR) Berdasarkan Standar Kesehatan Di Kabupaten Merangin, hasil penelitian menunjukkan bahwa 42.1% air isi ulang (UAR) tidak memenuhi persyaratan kualitas air minum berdasarkan permenkes Nomor 492 tahun 2010 tentang persyaratan kualitas air minum, dilihat dari kualitas fisik dan bakteriologis. Selain itu, 26.3% sampel air isi ulang rebusan yang mengandung bakteri *Coliform*, dengan tingkat kepercayaan 95% bahwa bakteri *Coliform* pada air isi ulang Usaha Air Rebusan (UAR) adalah sekitar 0,00/100 mL sampai dengan 1,6/100 mL. Ini menunjukkan bahwa sebagian besar air isi ulang tercemar oleh zat organik yang berasal dari hewan atau tanaman yang telah mati, serta tercemar oleh tinja manusia.

Penelitian Pulungan dan Away (2019: 10-19) dengan judul penelitian Analisa kualitas air minum isi ulang di Tanjung Pati, menyatakan bahwa hasil uji laboratorium dari 5 sampel, seluruh sampel terdapat positif bakteri *Coliform* dan melebihi kadar maksimum yang diperbolehkan Permenkes yaitu kadar maksimum 0 mg/l.

Penelitian Nisfitasari dan Yuliawati (2021: 1082-1086) dengan judul penelitian Perbedaan kandungan total *Coliform* pada air bersih dengan air minum di sekolah dasar Al-Firdaus Samarinda, didapatkan hasil kandungan *Coliform* pada air bersih 75 MPN/100 mL dan kandungan *Coliform* pada air minum sebesar 15 MPN/100 mL.

Penelitian Yulianingsih dan Djumati (2020: 44-49) dengan judul penelitian Hitung Jumlah Bakteri *Coliform* Pada Depot Air Minum Isi Ulang Dengan Menggunakan Metode MPN Di Kecamatan Kota Ternate Tengah menunjukkan terdapat 8 depot air minum isi ulang (30,7%) teridentifikasi adanya bakteri *Coliform* yaitu *Enterobacter* dan *Escherchia Coli* dan Tidak ada hubungan antara penemuan bakteri dengan lama beroperasi depot ($p=0,655>0,05$), penemuan bakteri dengan pergantian penyaring ($p=0,139>0,05$) dan penemuan bakteri dengan jenis sampel air yang digunakan ($p=0,425>0,05$).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat deskriptif analitik yaitu metode mendeskripsikan suatu objek penelitian melalui data atau sampel yang dikumpulkan, tanpa membuat kesimpulan yang dapat diterapkan secara umum (Sugiyono, 2013:147).

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juni 2024 di Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir. 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 di Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir yang berjumlah 7 depot yakni 5 depot air minum isi ulang yang direbus menggunakan kayu bakar dan 2 depot air minum isi ulang tidak direbus. Pengambilan sampel penelitian menggunakan teknik *Total Sampling* yaitu pengambilan sampel yang jumlahnya sama dengan populasi.

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, inkubator, 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, alkohol, dan air murni (Aquadess).

3.4.2 Cara Kerja

3.4.2.1 Di Lapangan

Dilakukan *survey* untuk mengetahui berapa depot air minum isi ulang yang ada di Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir. Setelah melakukan *survey* dilanjutkan dengan mengambil sampel air minum isi ulang yang direbus dan tidak direbus. Adapun langkahnya yaitu: pertama, sterilkan botol kaca yang akan digunakan sebagai wadah sampel air minum isi ulang kemudian rebus dalam air mendidih 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 sebelum sampel sampai ke Laboratorium Dinas Lingkungan Hidup untuk diuji kandungan bakteri *Coliform*.

3.4.2.2 Di Laboratorium

Untuk menilai tingkat cemaran atau kandungan bakteri *Coliform* dalam air minum isi ulang yang direbus dan tidak direbus di Desa Sejati Kecamatan Rambah Hilir, dilakukan analisis pengujian melalui tiga tahap yaitu uji pendugaan, uji penguat dan uji kelengkapan (Nisfitasari, 2021: 1083). Namun pada penelitian ini cukup dengan 2 tahapan uji yaitu dengan cara uji pendugaan dan uji penegasan. Hal ini dikarenakan untuk mengetahui keberadaan *Total Coliform* nya saja. Perhitungan bakteri *Coliform* diterapkan melalui metode MPN (*Most Probable Number*), sebelum memasuki proses pengujian bakteri *Coliform*, analisis melakukan persiapan awal dengan menyediakan reagen LB (*Lactose Broth*) dan BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*). Persiapan ini menjadi langkah awal sebelum dilakukan tahapan analisis untuk menentukan jumlah bakteri *Coliform* dalam sampel air yang diuji.

Cara kerja dalam pembuatan reagen *Lactose Broth* dan *Brilliant Green Lactose Broth* yaitu: (1) Lakukan preparasi alat dan bahan. Timbang 13,0 gr LB untuk 1 liter air murni dan BGLB sebanyak 40 gr untuk 1 liter air murni; (2) Tuang air murni dalam gelas ukur 250 mL sebagai takaran yang akan digunakan. Aquades yang telah di ukur kemudian di tuang kedalam Erlenmeyer berisi LB dan BGLB; (3) Aduk hingga LB dan BGLB terlarut. Tutup Erlenmeyer dengan kapas, kemudian panaskan di *hotplate* hingga mendidih; (4) Jika sudah mendidih, biarkan reagen dingin; (5) Siapkan tabung reaksi dan letakkan dalam rak tabung. Masukkan tabung durham secara terbalik; (6) Jika reagen sudah dingin, masukkan dalam tabung reaksi yang telah disiapkan. selanjutnya tabung reaksi di goyang agar reagen masuk kedalam tabung durham; (7) Tutup tabung reaksi dengan gumpalan kapas dan kasa; (8) Tabung reaksi di masukkan ke dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121⁰C. Jika sudah 15 menit dan *autoclave* mengeluarkan bunyi, matikan *autoclave* dan tunggu hingga suhu dan tekanan nya turun.

a) Uji Pendugaan

Jika reagen LB dan BGLB selesai, proses selanjutnya analis akan melakukan uji pendugaan. Uji pendugaan dilaksanakan untuk mengidentifikasi jumlah bakteri *Coliform* dalam air minum isi ulang. Seluruh komponen, termasuk peralatan dan media yang digunakan, harus dalam keadaan steril pada tahap uji pendugaan ini. Pertama, buka tutup tabung reaksi, sterilkan ujung tabung reaksi dengan api bunsen untuk meminimalisir terkontaminasi bakteri dari luar. Kedua, masukkan sampel air sebanyak 20 mL dalam tiap 5 tabung reaksi menggunakan pipet ukur. Ketiga, kemudian sterilkan lagi ujung tabung reaksi dengan api bunsen dan tutup kembali dengan kasa dan kapas. Keempat, setelah itu, inkubasi selama 2 hari dengan suhu 35⁰C di inkubator. Kelima, keluarkan tabung reaksi dari inkubator, lalu amati apakah didalam tabung durham terdapat gelembung atau tidak. Gelembung dalam tabung durham menandakan positif *Coliform*, sedangkan jika tidak terdapat gas atau gelembung menandakan tidak adanya *Coliform*.

b) Uji Penegasan

Tabung Durham yang menunjukkan hasil positif *Coliform* akan diuji kembali oleh analis, maka dilakukan penegasan dengan reagen BGLB. Uji ini dilakukan dengan tujuan untuk memvalidasi hasil yang telah diperoleh sebelumnya dalam uji pendugaan. Pada tahap ini tabung yang mengalami pembentukan gas atau gelembung dan dinyatakan sebagai hasil positif akan diinokulasi untuk langkah berikutnya dalam proses analisis. Pertama, panaskan jarum ose hingga merah, celupkan dalam tabung reaksi positif *Coliform* ke tabung reagen BGLB hingga 2 ose. Kedua, sterilkan ujung tabung reagen BGLB yang telah di ose dengan api bunsen dan tutup kembali dengan gumpalan kapas. Ketiga, inkubasi kembali dalam inkubator selama 1 hari dengan suhu 35°C. Langkah terakhir dalam penegasan yaitu melihat hasil yang telah di inkubasi apakah masih terdapat gelembung dalam tabung Durham. Kemudian hasil pengamatan dihitung dan dimasukkan pada tabel MPN (*Most Probable Number*) (*Standard Methods*, 2012: 9-48).

Tabel 1. MPN Indeks positif *Coliform*.

Jumlah tabung positif	MPN index/ 100 mL
0	< 1.1
1	1.1
2	2.60
3	4.60
4	8.0
5	> 8.0

(Sumber: *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 direbus menggunakan kayu bakar dan tidak direbus kemudian mendeskripsikan hasil penelitian.