

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang Bakteri

1. Pengertian Bakteri

Bakteri berasal dari bahasa Yunani "*Bakterion*" yang berarti batang atau tongkat. Bakteri tergolong dalam organisme tingkat rendah yang amat kecil, yang berbentuk peluru, batang atau sekrup dan juga dapat digolongkan dalam jamur belah. Bakteri dapat berkembang biak dengan membelah diri serta hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop. Bakteri adalah suatu organisme prokariot yang tidak mempunyai inti sejati dan komponen keturunannya terdapat didalam molekul DNA tunggal kromosom yang letaknya bebas didalam sitoplasma (Kurniawan dkk, 2018).

2. Struktur Bakteri

Struktur bakteri terdiri dari :

a. Inti/nucleus

Inti/nucleus merupakan badan inti yang tidak mempunyai dinding inti atau membran inti, didalamnya terdapat benang DNA yang panjangnya kira-kira 1 mm (Koentjoro dkk, 2020).

b. Sitoplasma

Sitoplasma tidak mempunyai inti mitokondria, sehingga enzim-enzim untuk transport elektron bekerja di membran sel (Koentjoro dkk, 2020).

c. Membran sitoplasma

Struktur membran sitoplasma atau membran sel berada di sebelah dalam dari dinding sel. Oleh karena itu, jika dilihat dari struktur lapisan pada sel-sel bakteri, membran plasma dilindungi oleh dinding sel bakteri, yang

mana sifat dinding sel bakteri lebih kaku jika dibandingkan dengan membran sitoplasma. Mesosom merupakan struktur dimana membran sitoplasma yang melipat ke dalam (invaginasi) sitoplasma. Mesosom berfungsi tempat terjadinya respirasi sel sehingga menghasilkan energi yang digunakan untuk aktivitas di dalam sel. Membran sitoplasma penting untuk mengendalikan lalu lintas substansi kimiawi dalam larutan, masuk ke dalam dan keluar sel (Koentjor dkk, 2020).

a. Dinding sel

Dinding sel bakteri memiliki struktur yang kompleks dan agak kaku. Dinding sel bakteri menentukan bentuk bentuk sel. Meskipun tidak mengandung enzim dan tidak bersifat semipermeabel, namun dinding sel diperlukan agar sel bakteri dapat berfungsi secara normal. Dinding sel yang kaku memungkinkan bakteri dapat mengatasi konsentrasi osmosis yang berbeda-beda dan sitoplasma tidak mengembangmelampaui batas dinding yang kaku itu. Sejauh ini diketahui bahwa ketebalan dinding sel bakteri berkisar 10-35 nm(Koentjoro dkk, 2020).

b. Kapsul

Kapsul atau lendar pada bakteri berfungsi untuk melindungi bakteri dari lingkungan luar juga sebagai tempat penyimpanan makanan. Kapsul dapat menyebabkan timbulnya sifat virulen/ infeksi terhadap inangnya. Jikabakteri kehilangankapsul, maka ia dapat kehilangan virulensinya. Flagel : filamen yang memanjang ke arah luar sel. Flagel merupakan alat gerak bakteri sehingga bakteri dapat bergerak dan berputar. Flagel disusun oleh sub unit-sub unit protein disebut flagelin. Ukuran flagel berdiameter 12-18 nm dan panjangnya lebih dari 20 nmd (Koentjoro dkk, 2020).

c. Pili

Pili digunakan untuk membawa bakteri bersama-sama yang memungkinkan transfer DNA dari satu sel ke sel lain, yang mana proses ini dinamakan konjugasi. Pili yang terlibat dalam proses konjugasi dinamakan pili (seks) konjugasi (Koentjorodkk, 2020)

d. Endospora

Endospora merupakan fase dimana bakteri tertentu menebalkandinding selnya sebagai bentuk pertahanan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, contoh pada *Bacillus* dan *Clostridium*. Endospora memiliki dinding yang amat tebal jika dibandingkan dengan sel vegetatifnya, sehingga Endospora sangat sukar diwarnai dengan pewarna biasa, dan harus menggunakan pewarna spesifik. Pewarna yang biasa digunakan adalah malachite green (Koentjoro dkk, 2020).

e. Vakuola

Beberapa bakteri yang hidup di air dan dapat berfotosintesis memiliki vakuola. Vakuola berfungsi sebagai pencernaan makanan dan osmoregulator sel. Vakuola gas pada bakteri berfungsi untuk mengatur jumlah gas sehingga bakteri akan meningkatkan atau mengurangi kepadatan selnya secara menyeluruh serta dapat bergerak ke atas atau kebawah didalam air (Koentjoro dkk, 2020).

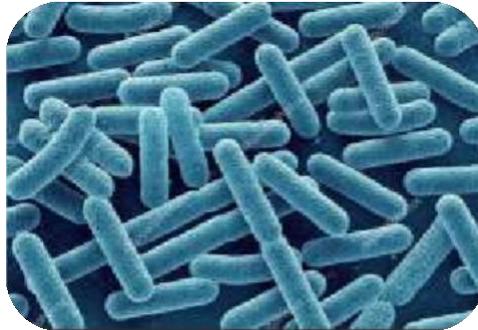
f. Klorosom

Klorosom hanya terdapat pada bakteri yang melakukan fotosintesis. Klorosom berbentuk lipatan yang terletak dibawah membran plasma mengandung klorofil dan pigmen fotosintetik (Koentjoro dkk, 2020).

3. Bentuk Bakteri

Terdapat 3 (tiga) bentuk-bentuk bakteri, yaitu:

a. Bakteri bentuk batang (*basil*)



Gambar 1. Bakteri berbentuk batang
(Sumber : Pratiwi dkk, 2020)

Bakteri berbentuk batang dikenal sebagai basil. Kata basil berasal dari *bacillus* yang berarti batang. Bentuk basil dibedakan atas :

1. Basil tunggal yaitu bakteri yang hanya berbentuk satu batang tunggal, misalnya *Salmonella typhi*, penyebab penyakit tipus.
2. Diplobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan dua- dua. Streptobasil yaitu bakteri berbentuk batang yang bergandengan memanjang membentuk rantai misalnya *Bacillus anthracis* penyebab penyakit antraks

b. Bakteri bentuk bulat (*coccus*)



Gambar 2. Bakteri bentuk *coccus*
(Sumber : Pratiwi dkk, 2020)

Bakteri berbentuk bulat dikenal sebagai *coccus*. Bentuk bulat dibedakan atas :

1. Diplokokus, yaitu bakteri berbentuk bulat yang bergandengan dua- dua, misalnya *Diplococcus pneumonia* penyebab penyakit pneumonia atau radang paru-paru.
2. Sarkina, yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkelompok empat- empat sehingga bentuknya mirip kubus.
3. Streptokokus yaitu bakteri bentuk bulat yang berkelompok memanjang rantai.
4. Stafilokokus yaitu bakteri berbentuk bulat yang berkoloni membentuk sekelompok sel tidak teratur sehingga bentuknya mirip kumpulan buah anggur.

c. Bentuk spiral



Gambar 3. Bakteri berbentuk spiral
(Sumber : Pratiwi dkk, 2020)

Ada tiga macam bentuk spiral :

1. Spiral, yaitu golongan bakteri yang bentuknya seperti spiral misalnya *Spirillum*.
2. Vibrio, ini dianggap sebagai bentuk spiral tak sempurna, misalnya *Vibrio cholera* penyebab penyakit kolera.
3. Spiroseta yaitu golongan bakteri berbentuk spiral yang bersifat lentur. Pada saat bergerak, tubuhnya dapat memanjang dan mengerut.

4. Cara Perkembangbiakan Bakteri

Bakteri umumnya berkembangbiak secara aseksual (vegetatif = tak kawin) dengan cara membelah diri. Pembelahan sel pada bakteri dinamakan pembelahan biner yaitu setiap sel membelah menjadi dua. Reproduksi bakteri secara seksual merupakan pertukaran materi genetik dengan bakteri lainnya. Pertukaran materi genetik disebut dinamakan rekombinasi genetik atau rekombinasi DNA (Saputro, 2017).

Rekombinasi genetik dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu:

- a. Transformasi adalah pemindahan sedikit materi genetik, bahkan satu gen saja dari satu sel bakteri ke sel bakteri yang lainnya.
- b. Transduksi adalah pemindahan materi genetik satu sel bakteri ke sel bakteri lainnya dengan perantaraan organisme yang lain yaitu bakterifage (virus bakteri).
- c. Konjugasi adalah pemindahan materi genetik berupa plasmid secara langsung melalui kontak sel dengan membentuk struktur seperti jembatan diantara dua sel bakteri yang berdekatan. Umumnya terjadi pada bakteri gram negatif (Wati, 2017).

B. Tinjauan Umum Tentang *Coliform*

1. Pengertian *Coliform*

Bakteri *Coliform* adalah bakteri yang hidup di saluran intestinal atau didalam saluran pencernaan manusia dan hewan, dan banyak terdapat pada kotoran atau feses (Rakhmadani dkk, 2019). Bakteri ini merupakan indikator adanya bakteri patogen lainnya pada air maupun kualitas makanan dan minuman (Mawarni dkk, 2019). Penularan bakteri ini dapat melalui air, makanan dan minuman (Permana, 2020). Bakteri *Coliform* adalah bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi, kotoran dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan dan minuman (Surono dkk, 2018). Ciri-ciri Bakteri *Coliform* adalah bersifat aerob atau anaerob fakultatif, termasuk ke

dalam bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, dan dapat memfermentasi laktosa untuk menghasilkan asam dan gas pada suhu 35°C-37°C (Wati dkk, 2017).

Infeksi *Coliform* pada manusia seringkali disebabkan oleh konsumsi makanan dari produk hewani yang tercemar, misalnya air yang digunakan tercampur dengan bahan yang telah terkontaminasi. Air yang terkontaminasi bakteri dapat menimbulkan bahaya bagi kesehatan seperti diare atau penyakit pencernaan lainnya (Anggraeni dkk, 2020). Menurut Dinkes Sulawesi Tenggara pada tahun 2017 menyatakan bahwa jumlah kasus diare yang ditangani yaitu sebanyak 39.913 kasus. Sementara itu menurut BPS Kota Kendari tahun 2018, jumlah kasus diare di Kota Kendari mencapai 5.559 kasus dan di wilayah Konawe masuk dalam tiga besar kasus diare terbanyak di Sulawesi Tenggara yaitu berjumlah 3.619 kasus (BPS Sulawesi Tenggara, 2018). Oleh karena itu, keberadaan kelompok bakteri *Coliform* sangat berkorelasi dengan tingkat kebersihan dan pengolahan pangan sehingga secara luas digunakan sebagai indikator kebersihan dalam pengolahan pangan. Mikroba yang memiliki kolerasi dengan adanya satu atau lebih jenis mikroba patogen atau berkolerasi dengan adanya toksin yang dihasilkan. Jenis mikroba ini biasanya lebih tahan panas, sehingga dapat dijadikan indikator kecukupan pemanasan pada pengolahan pangan (Wati dkk, 2017).

Bakteri patogen umumnya berasal dari kotoran hewan dan manusia, oleh karenanya bakteri indikator yang digunakan adalah juga berasal dari kotoran hewan dan manusia. Kelompok bakteri *Coliform* umumnya berasal dari kotoran hewan dan manusia, tetapi diantara kelompok *Coliform* terdapat golongan yang lebih tahan panas atau sering disebut sebagai *Thermolerant Coliform* atau sering disebut sebagai Fekal *Coliform* bercirikan sama dengan *Coliform* (Rakhmadani dkk, 2019).

Bakteri *Coliform* dibedakan menjadi 2 yaitu :

1. *Coliform* fekal, bakteri yang berasal dari kotoran manusia maupun hewan misalnya *Escherichia coli* (Nurmalika dkk, 2021).
2. *Coliform* non fekal, bakteri yang biasa ditemukan pada hewan atau tanaman yang telah mati misalnya *Enterobacter aerogenes* (Nurmalika dkk, 2021).

Escherichia coli merupakan bakteri yang hidup dalam saluran pencernaan hewan berdarah panas. Bakteri ini pertama kali diisolasi pada tahun 1885 oleh Theodor Escherichia dan dinamai sesuai dengan nama penemunya (Saputro, 2017). Bakteri *Escherichia coli* ini termasuk bakteri *Coliform* flora normal yang berbentuk batang pendek, berukuran 0,4 - 0,7 μm x 1,4 μm dan bersifat gram negatif. *Escherichia coli* merupakan mikroflora alami yang terdapat pada saluran pencernaan manusia dan hewan. Beberapa galur *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia adalah enterotogeneik, enterohaemorrhagik, enterotoksigenik, enteropatogenetik, enteroinvasiue, dan enteroagregatif (Amaliyah, 2020).

Escherichia coli yang menyebabkan diare akut dapat dikelompokkan diantaranya:

- a. *Escherichia coli Enteropatogenic* (EPEC) merupakan penyebab diare yang umum terjadi pada bayi terutama di negara berkembang. EPEC menempel pada sel mukosa usus halus. Akibat infeksi EPEC adalah diare encer yang disebabkan karena *filamentous aktin pedestal*, yang biasanya sembuh dengan sendirinya tetapi dapat menjadi kronik (Ula, 2021).
- b. *Escherichia coli Enterotoksigenic* (ETEC) adalah penyebab diare akut pada bayi umumnya disebabkan karena dehidrasi. ETEC menempel di sel epitel mukosa sehingga dapat memproduksi eksotoksin yang menyebabkan *Secretory Diarrhea*. Sebelum sel kuman dapat mengeluarkan toksin, terlebih dahulu sel kuman harus melekat pada sel epitel mukosa (Ula, 2021).
- c. *Escherichia coli Enterohemoragik* (EHEC) merupakan penyebab penyakit diare dan juga colitis hemoragik, endotoksin merupakan pertanda bahwa telah tumbuh sel bakteri pada mukosa usus. Endotoksin berperan menimbulkan iritasi pada

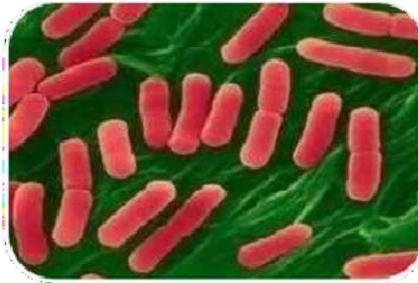
dinding usus, menyebabkan diare yang berat (Ula, 2021).

- d. *Escherichia coli* *Enteroagregatif* (EAEC) memproduksi entero aggregative ST toksin (tidak tahan panas) umumnya menyebabkan diare akut atau kronik dan melekat pada sel usus manusia. Ciri umum EAEC yaitu diare tidak berdarah, tidak menyebabkan inflamasi pada mukosa intestine (Budiarti dkk, 2020).

2. Klasifikasi bakteri *Coliform*

Menurut familinya *Coliform* mempunyai beberapa genus yang merupakan organisme enterik saluran pencernaan salah satunya yaitu bakteri *E.coli*.

Klasifikasi	: <i>Coliform</i>
Divisio	: <i>Protophita</i>
Classs	: <i>Schizomisetes</i>
Ordo	: <i>Eubacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia Coli</i>



Gambar 4. Morfologi bakteri *Coliform*
(Sumber : Lihan dkk, 2017)

Bakteri *Coliform* adalah gabungan dari berbagai jenis spesies bakteri yang berasal dari manusia dan hewan berdarah panas (Trisnawati dkk, 2019). Jenis bakteri ini bersifat aerob/anaerob fakultatif, berbentuk bulat, termasuk ke dalam bakteri gram negatif, tidak berspora, dan dapat memfermentasi laktosa guna menghasilkan asam

dan gas pada suhu 35°C- 37°C (Mahulette dkk, 2022).

Kehadiran bakteri *Coliform* dapat mengindikasikan kontaminasi dari air dengan bahan feses manusia atau hewan maupun dari tumbuhan yang telah mati (Hutahaean dkk, 2020). Bakteri *Coliform* mempunyai enzim tambahan yaitu sitokromoksidase dan beta-galaktosidase (Saputri dkk, 2020). Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa apabila terdapat bakteri. *Coliform* pada air atau makanan, hal ini menandakan bahwa air dan makanan tersebut telah tercemar oleh feses. Genus yang tergolong dalam kelompok *Coliform* yaitu *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Serratia* (Mahardika dkk, 2018).

E.Coli pada umumnya ditemukan di dalam usus manusia. Bakteri ini terdiri dari beberapa jenis dan sebagian besar di antaranya tidak berbahaya. Salah satu bakteri *E. Coli* yang berbahaya yaitu *E. Coli* O157:H7. Bakteri ini dapat menyebabkan keracunan makanan dan infeksi yang cukup serius. *E. Coli* O157:H7 dapat menghasilkan racun yang mampu merusak dinding dari usus kecil dan dapat mengakibatkan kram perut, diare yang bercampur dengan darah (Izzah, 2019).

3. Patogenesis Penyakit oleh *Coliform*

Bakteri *Coliform* dalam minuman dapat menunjukkan kemungkinan adanya mikroba enteropatogenik atau toksigenik berkembang biak yang berbahaya bagi kesehatan (Sitorus, 2019). Infeksi bakteri *Coliform* dapat disebabkan karena mengkonsumsi makanan atau minuman yang telah terkontaminasi bakteri. *E.Coli* termasuk dalam bakteri *Coliform* dan berkembang biak di dalam usus manusia. Adanya bakteri ini, maka dalam tahapan pengolahan makanan atau minuman tersebut telah berkontak dengan feses yang dapat mengganggu pencernaan manusia (Utami dkk, 2021).

C. Tinjauan Umum Tentang *Thai Tea*

1. Pengertian *Thai Tea*

Thai tea merupakan minuman khas Thailand yang berbahan dasar teh hitam yang ditambahkan dengan gula, susu kental manis dan es. Penyeduhan pada suhu dan waktu tertentu diharapkan untuk menghindari bakteri hidup dalam air yang digunakan selama pembuatan *Thai tea* (Mawarni dkk, 2019). Pengolahan minuman serbuk yang tidak sesuai dengan *hygiene* sanitasi sehingga dapat berisiko terkontaminasi. Apabila minuman yang terkontaminasi dikonsumsi dapat menyebabkan penyakit misalnya diare (Purwati dkk, 2020).

Tercemarnya minuman olahan dapat disebabkan oleh buruknya sanitasi penjual minuman olahan pada saat proses pengolahan minuman olahan serta tempat berjualan minuman olahan tersebut. Rendahnya pengetahuan sanitasi penjual, seperti tidak menjaga kebersihan alat-alat yang digunakan dalam mengolah minuman olahan dapat menyebabkan kontaminasi bakteri pada minuman olahan tersebut, serta tempat berjualan yang kotor juga dapat menyebabkan tercemarnya minuman olahan yang dapat membahayakan konsumen (Utami dkk, 2017).

Thai tea adalah salah satu jenis minuman olahan siap saji yang berbahan dasar serbuk yang mengandung bahan tambahan lain baik alami maupun sintetik, dan proses penyajiannya dalam waktu singkat (Rohmah dkk, 2021). Penyebab terkontaminasinya minuman *thai tea* oleh *Escherichia coli* sering terjadi karena sanitasi pengelolaan minuman yang tidak memenuhi syarat kesehatan. Salah satu parameter *hygiene* jajanan dapat dilihat dari parameter mikrobiologinya. Keberadaan bakteri *coliform* dan *Escherichia coli* dalam minuman merupakan indikator untuk menentukan tingkat kualitas makanan dan minuman secara mikrobiologi. Bakteri *Escherichia coli* dalam jumlah yang berlebihan dapat mengakibatkan diare, dan bila bakteri ini menjalar ke sistem/organ tubuh yang lain, maka akan dapat menyebabkan infeksi. Infeksi *Escherichia coli* sering kali

berupa diare yang disertai darah, kejang perut, demam, dan terkadang dapat menyebabkan gangguan pada ginjal (Hubaibah dkk, 2019).

Pengelolaan minuman dapat menjadi poin yang sangat penting mengingat pada saat ini berbagai macam terobosan penemuan minuman baru terus bermunculan salah satunya ialah minuman *Thai Tea*. Kesalahan pengolahan dalam pembuatan minuman ini dapat menyebabkan kemungkinan peluang terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli*, yang menjadi salah satu penyebab timbulnya penyakit diare (Hubaiba dkk, 2021). Di berbagai wilayah kota Kendari sudah banyak yang menjual minuman *Thai Tea*, begitu juga di desa Toronipa Kecamatan Soropia.

Mengingat harga minuman *Thai Tea* yang murah, kekhawatiran yang timbul adalah penggunaan bahan-bahan mentah yang berpotensi masuknya kontaminan makanan ataupun minuman berupa mikroorganisme yang berbahaya bagi tubuh. Diare sampai saat ini merupakan masalah kesehatan masyarakat di negara berkembang, karena sering menimbulkan Kejadian Luar Biasa (KLB) dan disertai dengan kematian yang tinggi. *World Health Organization* (WHO) 2017 menyatakan bahwa penyakit diare merupakan salah satu penyakit yang menjadi penyebab utama mortalitas dan morbiditas pada anak-anak di dunia. Penyakit diare selalu masuk dalam 10 besar penyakit di hampir seluruh Puskesmas di Indonesia (Hubaibah dkk, 2021).

Pada minuman *Thai tea* menggunakan es batu sebagai produk pelengkap, es batu pada minuman *Thai tea* yang berguna agar menimbulkan cita rasa dingin menyegarkan saat mengkonsumsi minuman tersebut. Menurut SNI 01-3839-1995, syarat mutu es batu yaitu tidak boleh mengandung bakteri *coliform* dalam 100 mL air yang digunakan sebagai bahan pembuatnya (Febriyanti, 2020).

2. Penyebaran penyakit melalui minuman

Penyebaran penyakit pada minuman dapat terjadi karena meminum air yang tercemar, bukan dari airnya melainkan berasal dari feses manusia atau hewan yang mencemari air tersebut. Jalur masuk mikroorganisme ke tubuh manusia yaitu melalui saluran pencernaan. Kebanyakan mikroorganisme tersebut akan dihancurkan oleh asam klorida (HCl) dan enzim lipase di dalam usus halus. Mikroorganisme yang bertahan dapat menimbulkan penyakit seperti diare, disentri dan tifus. Bakteri penyebab infeksi tersebut selanjutnya dikeluarkan melalui feses dan dapat di pindahkan ke inang lainnya melalui air, makanan atau jari-jari tangan yang terkontaminasi (Kurniawan, 2021).

Air atau makanan yang terkontaminasi oleh feses manusia baik secara langsung maupun tidak langsung merupakan jalur tempat terjadinya penyakit. Bakteri *Basilus typhoid* dapat bertahan selama berminggu-minggu di dalam air, debu, es dan bahkan limbah yang sudah kering. Bakteri yang sering mengkontaminasi air adalah bakteri enterik yang menyebabkan gangguan saluran cerna diantaranya *Escherichia Coli*, *Shigella*, *Salmonella* dan *Proteus*. *Escherichia Coli* pada air minum dapat dijadikan parameter tingkat pencemaran air, karena *Escherichia Coli* merupakan flora normal usus yang ikut bersama tinja (Annisa dkk, 2021).

Analisis pada minuman bertujuan untuk membuktikan adanya *Escherichia coli* yang merupakan bakteri flora normal dalam usus yang ikut di keluarkan bersama dengan feses. Bukti keberadaan *Escherichia coli* dalam sampel air menunjukkan adanya cemaran bakteri yang bisa menyebabkan penyakit. Bakteri yang sering mengkontaminasi air adalah bakteri enterik penyebab infeksi saluran pencernaan yaitu kelas *Enterobacteriaceae* (Annisa dkk, 2021).

D. Tinjauan Umum Tentang Pemeriksaan *Coliform*

Pemeriksaan *Coliform* dapat dilakukan dengan menggunakan metode MPN. Metode MPN adalah metode yang digunakan untuk mengidentifikasi adanya kontaminasi pada minuman/makanan yang disebabkan oleh sanitasi *hygiene* (Cahyono dkk, 2019).

1. Definisi *Most Probable Number* (MPN)

MPN adalah metode yang digunakan untuk melakukan pemeriksaan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* pada sampel air maupun bahan makanan yang menggunakan data dari hasil pertumbuhan mikroorganisme pada medium cair *Lactosa Broth* (LB) dan *Briliant Green Lactosa Broth*(BGLB) yang diencerkan berdasarkan tingkat seri tabungnya sehingga menghasilkan kisaran jumlah mikroorganisme yang diuji dalam nilai MPN (Kurniawan, 2018).

Nilai MPN adalah perkiraan unit pembentuk koloni dalam suatu sampel. Umumnya sampel air bersih dinyatakan aman untuk digunakan jika mengandung bakteri *coliform* tidak lebih dari 50 dalam 100 ml air bersih. Untuk menentukan suatu minuman terbebas dari berbagai jenis bakteri kontaminan, maka perlu dilakukan uji distribusi cemaran bakterinya. Selama ini untuk mendeteksi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan metode MPN tetapi hanya dikhususkan pada bakteri *Coliform* (Fusvita dkk, 2019).

2. Jenis pengujian MPN

MPN *Coliform* adalah bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya populasi kotoran dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, dan minuman. Metode MPN adalah metode yang digunakan untuk menghitung bakteri *Coliform* yang menggunakan pengujian fermentasi tabung (Saputro, 2017). Terdapat tiga pengujian yaitu uji penduga (*presumptivetest*), uji konfirmasi (*confirmed test*) dan uji pelengkap (*completed test*).

a. Uji penduga (*presumptive test*)

Uji ini bertujuan untuk menduga ada atau tidaknya bakteri *E.coli*. Bakteri *E.coli* mempunyai sifat mampu memfermentasikan laktosa dengan cara menghasilkan gas. Bakteri *E.coli* diduga meliputi semua bakteri yang bergram negatif tidak membentuk spora, selnya membentuk sel pendek, bersifat fakultatif anaerob, membentuk gas dalam waktu 24 jam dari laktosa pada temperatur 37°C (Dhafin, 2017).

Untuk analisis air, dalam uji penduga di gunakan media LB dengan metode 3 tabung, yang bertujuan untuk mencari kuman peragi laktosa dan membentuk gas pada suhu 37°C (Lumbanraja, 2019).

b. Uji konfirmasi (*confirmed test*)

Pada uji penegasan digunakan media BGLB, yang bertujuan untuk menegaskan hasil positif dari test perkiraan (dugaan) media yang secara umum digunakan adalah BGLB 2% atau bisa juga menggunakan media selektif dan diferensial untuk bakteri *E.coli* seperti *Eosin Methylene Blue* (EMBA). Pembacaan dilakukan dengan melihat 24- 48 jam dengan melihat tabung-tabung yang positif. Test ini merupakan test yang minimal harus dilakukan untuk pemeriksaan bakteriologis air terutama untuk isolasi dandiferensiasi Non fecal *Coliform* dan fecal *Coliform*.(Lumbanraja, 2019).

c. Uji pelengkap (*completed test*)

Untuk menentukan spesies golongan *Coliform*. Biasanya menggunakan media EMBA. Uji sempurna dilakukan dengan menginokulasikan koloni bakteri pada medium agar dengan cara digoreskan dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35 °C. Pembenuhan pada media agar ini mengakibatkan media agar menjadi bewarna merah menyala dikarenakan adanya pertumbuhan bakteri *E. coli* (Dhafin dkk, 2017).

3. Prinsip dalam metode MPN

Metode MPN umumnya digunakan untuk menghitung jumlah mikroba di dalam sampel yang berbentuk cair, meskipun dapat juga digunakan untuk sampel yang berbentuk padat dengan terlebih dahulu membuat suspensi 1:10 dari sampel tersebut. Kelompok jasad renik yang dapat dihitung dengan metode MPN juga bervariasi tergantung dari medium yang digunakan untuk pertumbuhan (Lumbanraja, 2019).

Prinsip utama metode MPN adalah mengencerkan sampel sampai tingkat tertentu sehingga didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai. Jika penanaman dalam tabung menghasilkan frekuensi pertumbuhan tabung positif ditunjukkan dengan ada bakteri ditandai dengan adanya gas didalam tabung Durham. Semakin besar jumlah sampel yang dimasukkan (semakin rendah jumlah pengenceran yang dilakukan), maka semakin sering tabung positif yang muncul. Semakin kecil jumlah sampel yang dimasukkan (semakin tinggi pengenceran yang dilakukan) maka semakin jarang tabung positif yang muncul. Jumlah sampel atau pengenceran yang baik adalah yang menghasilkan tabung positif. Semua tabung positif yang dihasilkan sangat tergantung dengan probabilitas sel yang terambil oleh pipet saat memasukkannya kedalam media (Lumbanraja, 2019).

Asumsi yang diterapkan dalam metode MPN adalah sebagai berikut (Apriliyanti dkk, 2020) :

- a. Bakteri terdistribusi sempurna dalam sampel
- b. Sel bakteri terpisah-pisah secara individual, tidak dalam bentuk rantai atau kumpulan (bakteri *Coliform* termasuk *E.coli* terpisah sempurna tiap selnya dan tidak membentuk rantai).
- c. Media yang dipilih telah sesuai untuk pertumbuhan bakteri target dalam suhu dan waktu inkubasi tertentu sehingga minimal satu sel hidup mampu menghasilkan tabung positif selama masa inkubasi tersebut. Jumlah yang didapatkan menggambarkan bakteri yang hidup saja. Sel yang terluka dan tidak

mampu menghasilkan tabung positif tidak akan terdeteksi.

Metode MPN mempunyai kelebihan dan kekurangan, yaitu :

1. Kekurangan metode MPN :
 - a. Sampel yang digunakan untuk satu kali pengujian hanyasedikit
 - b. Jumlah bakteri *E.coli* yang dihitung hanya dalam jumlahkasar
 - c. Media dan perlengkapan yang digunakan terlalu banyak
 - d. Tidak dapat dilakukan dalam lapangan tempat pengambilan sampel,sehingga memerlukan sistem transportasi khusus untuk meminimalkan perubahan*Coliform* dalam sampel.
2. Kelebihan metode MPN :
 - a. Sederhana
 - b. Dapat digunakan untuk menghitung jumlah *Coliform* fekal
 - c. Akurasi dapat ditingkatkan dengan memperbanyak tabung yang digunakan setiap pengencerannya, ukuran (volume) sampel yang cukup besar dibanding plate count. Sensitivitas umumnya cenderung lebih baik pada konsentrasi mikroorganisme yang sedikit dari pada plate count. Jika mediumspesifik yang sesuai dengan pertumbuhan bakteri target dapat dibuat maka perkiraan perhitungan MPN dapat dilakukan berdasarkan medium tersebut. Kelemahan dari metode ini tidak dapat digunakan dalam pengamatan morfologi dari suatu mikroorganisme dan membutuhkan alat gelas yang banyak (Dhafin dkk, 2017).

MPN dinilai dari perkiraan unit tumbuh seperti *Colony Forming Unit's* (CFU), bukan dari sel individual. Meskipun demikian, baik nilai CFU ataupun MPN dapat menggambarkan seberapa banyak sel individual yang tersebal dalam sampel. Metode MPN dirancang dan lebih cocok untuk diterapkan pada sampel yang memiliki konsentrasi <100/g atau mL. Oleh karena itu,nilai MPN dari sampel yang memiliki populasi mikroorganisme yang tinggi umumnya tidak begitu menggambarkan jumlah mikroorganisme yang sebenarnya. Jika jumlah kombinasi tabungpositif tidak sesuai dengan tabel, maka harus diuji ulang. Semakin banyak

seri tabung, semakin tinggi tingkat akurasi, tetapi juga akan mempertinggi biaya analisisnya (Jayanti dkk, 2020).

Ada 3 ragam yang biasanya di pakai pada pemeriksaan MPN yaitu:

1. Ragam 5 1 1
 - a. 5 tabung yang berisi LB double x 10 ml
 - b. 1 tabung yang berisi LB single x 1 ml
 - c. 1 tabung yang berisi LB single x 0, 1 ml
2. Ragam 5 5 5
 - a. 5 tabung yang berisi LB double x 10 ml
 - b. 5 tabung yang berisi LB single x 1 ml
 - c. 5 tabung yang berisi LB single x 0,1 ml
3. Ragam 3 3 3
 - a. 3 tabung yang berisi LB double x 10 ml
 - b. 3 tabung yang berisi LB single x 1 ml
 - c. 3 tabung yang berisi LB single x 0, 1 ml