



**PENGARUH PENYIMPANAN MEDIA TERHADAP
PERTUMBUHAN *COLIFORM* DENGAN METODE
*MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER***

KARYA TULIS ILMIAH

**DWI NURCAHYO
202003005**

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MITRA KELUARGA
BEKASI
2023**



**PENGARUH PENYIMPANAN MEDIA TERHADAP
PERTUMBUHAN *COLIFORM* DENGAN METODE
*MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER***

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Ahli Madya
Kesehatan (A.Md. Kes)

DWI NURCAHYO

202003005

**PROGRAM STUDI DIII TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN MITRA KELUARGA
BEKASI
2023**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini, saya yang bernama :

Nama : Dwi Nurcahyo

NIM : 202003005

Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah dengan judul “Pengaruh Penyimpanan Media Terhadap Pertumbuhan *Coliform* Dengan Metode *Miniaturized Most Probable Number*” adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan bebas dari plagiat

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Bekasi, 16 Juni 2023



Dwi Nurcahyo

NIM. 202003005

HALAMAN PENGESAHAN

Karya Tulis Ilmiah yang disusun oleh:

Nama : Dwi Nurcahyo
NIM : 202003005
Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis
Judul : Pengaruh Penyimpanan Media Terhadap Pertumbuhan
Coliform Dengan Metode *Miniaturized Most Probable
Number*

Telah diujikan dan dinyatakan lulus dalam sidang KTI di hadapan Tim Penguji
pada tanggal 23 Juni 2023

Ketua Penguji



Maulin Inggaini, M.Si
NIDN. 0303108901

Anggota Penguji I



Noor Andryan Ilsan, PhD
NIDN. 0308059101

Mengetahui,

Koordinator Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis

STIKes Mitra Keluarga



Siti Nurfairiah, S.Pd., M.Si
NIDN. 0324128503

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmatnya penulisan Proposal Karya Tulis Ilmiah dengan judul **“PENGARUH PENYIMPANAN MEDIA TERHADAP PERTUMBUHAN COLIFORM DENGAN METODE *MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER*”** dapat terselesaikan dengan baik. Dengan terselesaikan proposal KTI ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Susi Hartati, S.Kep., M.Kep., Sp.Kep.An, selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga.
2. Ibu Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si., selaku Ketua Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis dan Dosen Pembimbing Akademik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga.
3. Bapak Noor Andryan Ilsan PhD., selaku Dosen Pembimbing KTI yang telah memberikan saran dan masukan yang baik sehingga Karya Tulis Ilmiah ini bisa terselesaikan dengan lancar.
4. Ayah dan ibu serta saudara yang senantiasa memberikan bimbingan dan doa dalam menyelesaikan proposal KTI ini.
5. Teman-teman angkatan 2020 dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya proposal KTI ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.
6. Pihak-pihak yang lain terkait dalam penelitian, yang bersedia dan telah mengizinkan saya melakukan penelitian untuk proposal KTI ini

Penulis menyadari bahwa penulisan proposal Karya Tulis Ilmiah ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk saran dan kritik yang bersifat membangun. Semoga proposal Karya Tulis Ilmiah ini bisa bermanfaat bagi semua.

Bekasi, 16 Juni 2023

Dwi Nurcahyo

PENGARUH PENYIMPANAN MEDIA TERHADAP PERTUMBUHAN COLIFORM DENGAN METODE MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER

Dwi Nurcahyo
NIM. 202003005

Abstrak

Pendahuluan : Bakteri *coliform* merupakan bakteri yang sangat menyukai air, untuk mengetahui adanya bakteri di dalam air. Bakteri *coliform* dibedakan menjadi 2 jenis yaitu fekal dan non fekal. *Klebsiella pneumonia* merupakan bakteri yang tergolong *coliform* non-fekal. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit diare. Dari semua penderita diare di dunia sebesar 88% disebabkan oleh pasokan air dan sanitasi. Bakteri *coliform* dapat diketahui dengan melakukan pemeriksaan MPN, akan tetapi metode ini memerlukan banyak waktu dan biaya yang dikeluarkan. Metode yang tidak berbeda, akan tetapi dapat meminimalisir waktu, biaya dan caranya lebih praktis yaitu metode *Miniaturized Most Probable Number* (mMPN), metode ini merupakan metode yang telah di modifikasi dengan menggunakan *microplate* sebagai alatnya untuk menggantikan tabung reaksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya pengaruh penyimpanan terhadap pertumbuhan *coliform* dengan metode mMPN.

Metode : Jenis penelitian ini adalah Kuantitatif dan desain penelitian ini adalah eksperimen. Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *coliform* (*Klebsiella pneumonia*) yang berasal dari pus pasien di salah satu rumah sakit swasta di kota Bekasi. Analisis data yang digunakan yaitu analisis komparatif menggunakan uji *Mann Whitney u*.

Hasil : Didapatkan jumlah bakteri dengan rata – rata pada metode mMPN yang menggunakan media *fresh* = 7,3 CFU/ml, kemudian pada media yang telah di simpan selama 3 bulan di dapatkan jumlah = 11,9 CFU/ml.

Kesimpulan : Tidak terdapat pengaruh perbedaan secara nyata rata – rata jumlah bakteri pada metode mMPN dengan pengaruh penyimpanan media *fresh* dan disimpan selama 3 bulan yang di dapatkan dengan uji statistik dimana nilai sig. ($p>0,05$).

Kata Kunci : Bakteri *coliform*, *miniaturized Most Probable Number*

THE EFFECT OF MEDIA STORAGE ON COLIFORM GROWTH WITH MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER METHOD

Dwi Nurcahyo
NIM. 202003005

Abstract

Introduction : Coliform bacteria are bacteria that really like water, to detect the presence of bacteria in the water. Coliform bacteria are divided into 2 types, namely faecal and non-faecal. *Klebsiella pneumonia* is a bacterium that belongs to the non-faecal coliform. These bacteria can cause diarrheal disease. Of all diarrheal sufferers in the world, 88% are caused by water supply and sanitation. Coliform bacteria can be identified by carrying out an MPN examination, but this method requires a lot of time and costs. A method that is no different, but can minimize time, costs and is more practical, namely the Miniaturized Most Probable Number (mMPN) method, this method is a modified method using a microplate as a tool to replace test tubes. This study aims to determine the effect of storage on coliform growth using the mMPN method.

Method : This type of research is quantitative and the research design is experimental. The sample used in this study was coliform bacteria (*Klebsiella pneumonia*) from patient pus at a private hospital in Bekasi city. The data analysis used was comparative analysis using the Mann Whitney u.

Result : The results showed that the average number of bacteria in the mMPN method using fresh media = 7.3 CFU/ml, then in media that had been stored for 3 months, the number = 11.9 CFU/ml.

Conclusion : of this study is that there is no significant difference in the average number of bacteria in the mMPN method with the effect of storing fresh media and storing it for 3 months which is obtained by statistical tests where the sig. ($p > 0.05$).

Key words : Coliform, miniaturized Most Probable Number

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK	v
<i>ABSTRAK</i>	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN.....	xi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TELAAH PUSTAKA	4
A. Tinjauan Pustaka	4
1. Air Minum.....	4
2. Bakteri <i>coliform</i>	4
3. Pemeriksaan bakteri <i>coliform</i>	5
B. Kerangka Teori.....	7
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	8
A. Kerangka Konsep	8
B. Hipotesis Penelitian.....	9
BAB IV METODE PENELITIAN	10
A. Desain Penelitian.....	10
B. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	10
C. Sampel Penelitian.....	10
D. Variabel Penelitian	10
E. Definisi Operasional.....	11
F. Alat dan Bahan Penelitian.....	11
G. Prosedur Kerja.....	12
H. Alur Penelitian.....	17
I. Pengolahan dan Analisa Data.....	17
BAB V HASIL PENELITIAN	18
BAB VI PEMBAHASAN	26
BAB VII KESIMPULAN	31
A. Kesimpulan.....	31
B. Saran.....	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
LAMPIRAN.....	35

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1	Tabel MPN untuk 3 seri tabung dengan 0,1;0,001; dan 0,0001 g.....	7
Tabel 5. 1	Jumlah bakteri pada metode ALT.....	19
Tabel 5. 2	Jumlah bakteri pada metode mMPN.....	20
Tabel 5. 3	Uji <i>Mann whitney u</i> perbandingan metode ALT dan mMPN.....	21
Tabel 5. 4	Jumlah bakteri pada metode ALT.....	21
Tabel 5. 5	Jumlah bakteri pada metode mMPN.....	22
Tabel 5. 6	Uji <i>Mann Whitney u</i> perbandingan metode ALT dan mMPN.....	22
Tabel 5. 7	Perbandingan jumlah bakteri pada media yang <i>fresh</i> dan disimpan selama 3 bulan dengan menggunakan konsentrasi 10^1	23
Tabel 5. 8	Uji <i>Mann whitney u</i> perbandingan uji mMPN dengan media yang <i>fresh</i> dan disimpan 3 bulan.....	24

DAFTAR GAMBAR

Gambar 4.1	Pembuatan suspensi bakteri <i>Klebsiella</i> sp.	14
Gambar 4.2	Uji coba perbandingan jumlah bakteri <i>coliform</i> dengan metode ALT dan mMPN	15
Gambar 4.3	Uji mMPN dengan perlakuan penyimpanan media dengan menggunakan <i>coliform</i> (<i>Klebsiella pneumonia</i>)	16
Gambar 5.1	Koloni <i>Klebsiella pneumonia</i> yang digunakan untuk (A) pengujian dengan membandingkan metode ALT dan mMPN, dan (B) pengujian dengan membandingkan metode mMPN terhadap pengaruh penyimpanan media	18
Gambar 5.2	Uji ALT pada media TSA dengan 3 kali pengulangan menggunakan konsentrasi 10^1	19
Gambar 5.3	Uji mMPN dengan 3 kali pengulangan yang berisi pada lubang plate (A) 100 μ l sampel + 90 μ l media LBDS, (B) 10 μ l sampel + 90 μ l media LBSS, (C) 1 μ l + 90 μ l media LBSS	20
Gambar 5.4	Koloni bakteri pada konsentrasi 10^1 metode ALT	21
Gambar 5.5	Bakteri <i>coliform</i> pada konsentrasi 10^1 metode mMPN yang berisi (A) 100 μ l sampel + 90 μ l media LBDS, (B) 10 μ l sampel + 90 μ l media LBSS, (C) 1 μ l + 90 μ l media LBSS	22
Gambar 5.6	Hasil mMPN pada media (1) <i>Fresh</i> dan (2) Disimpan selama 3 bulan yang berisi (A) 100 μ l sampel + 90 μ l media LBDS, (B) 10 μ l sampel + 90 μ l media LBSS, (C) 1 μ l + 90 μ l media LBSS	23
Gambar 5.7	Grafik jumlah bakteri mMPN dengan pengaruh penyimpanan	24
Gambar 5.8	Uji konfirmasi bakteri pada mMPN dengan media EA	25

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan	36
Lampiran 2. Jadwal penelitian	37
Lampiran 3. Log bimbingan KTI.....	38

ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

%	: Persen
>	: Lebih besar dari
<	: Lebih kecil dari
ALT	: Angka Lempeng Total
BHIB	: <i>Brain Heart Infusion Broth</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
Kemendes RI	: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
LB	: <i>Lactose Broth</i>
LBDS	: <i>Lactose Broth Double Strength</i>
LBSS	: <i>Lactose Broth Single Strength</i>
mMPN	: <i>miniaturized Most Probable Number</i>
MPN	: <i>Most Probable Number</i>
NaCl	: Natrium klorida
OD	: <i>Optical Density</i>
SNI	: Standar Nasional Indonesia
TSA	: <i>Tryptic Soy Agar</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tubuh manusia sangat membutuhkan air karena sebagian besar di dalam tubuh manusia mengandung air. Salah satu manfaat air bagi kehidupan manusia yaitu untuk minum, sebanyak ± 2 liter per hari adalah batas minimum air yang wajib di konsumsi tubuh manusia (Hilmarni dkk., 2018). Menurut Suriaman dan Apriliasari (2017) air minum yang dapat di konsumsi manusia harus memiliki syarat dan ketentuan. Pada Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia (PerMenKes RI) No: 492/MENKES/PER/IV/2010, mengenai persyaratan air minum yang diperbolehkan secara mikrobiologi adalah tidak di temukannya bakteri jenis *coliform* dalam 100 ml air. Bakteri yang masuk ke dalam tubuh manusia melalui air (*waterborne disease*) dapat menyebabkan penyakit diare, penyakit ini dapat terjadi karena adanya *coliform* yang mengkontaminasi air minum kemudian air tersebut di konsumsi oleh manusia

Menurut WHO (2017) sebanyak 1,7 juta dari total penduduk di dunia menderita penyakit diare. Jumlah penderita yang menjadi korban penyakit diare sebesar 88 % disebabkan oleh pasokan air, sanitasi dan kebersihan yang tidak aman. Menurut Kemenkes (2018) prevalensi penyakit diare di Indonesia mencapai 12,3 % dari jumlah seluruh penduduk, tetapi pada tahun 2019 penyakit mengalami penurunan menjadi 4,5 %. Pada tahun 2017 kasus diare mencapai 1,94% atau berjumlah 933.122 orang dari seluruh penduduk di Jawa Barat.

Bakteri *coliform* merupakan bakteri yang sangat menyukai air, untuk mengetahui adanya bakteri di dalam air dapat di lakukan menggunakan beberapa pemeriksaan yaitu Angka Lempeng Total (ALT) dan *Most Probable Number* (MPN). Uji ALT merupakan pemeriksaan metode kuantitatif untuk

mengetahui jumlah bakteri pada suatu sampel yang dilakukan dengan cara tuang, tetes dan sebar . Berdasarkan SNI 01-3553-2006 menetapkan jumlah bakteri yang diperbolehkan untuk pemeriksaan ALT adalah $1,0 \times 10^2$ CFU/ml (Riza Linda, 2019). Uji *Most Probable Number* (MPN) merupakan metode untuk mengetahui ada tidaknya bakteri *coliform* pada air, akan tetapi metode ini memerlukan banyak tabung reaksi, serta memakan banyak waktu dan biaya yang dikeluarkan. Metode yang tidak berbeda, akan tetapi dapat meminimalisir waktu, biaya dan caranya lebih praktis yaitu metode *Miniaturized Most Proable Number* (mMPN), metode ini merupakan metode yang telah di modifikasi dengan menggunakan *microplate* sebagai alatnya untuk menggantikan tabung reaksi (Colla dkk., 2014).

Penelitian sebelumnya Colla dkk (2014) melakukan uji mMPN dengan menggunakan sampel bakteri *Salmonella* yang dengan sengaja di kontaminasikan pada daging ayam, di dapatkan jumlah bakteri pada pengenceran 10^{-5} berjumlah 57 MPN/ml dan pengenceran 10^{-6} sama dengan 30 MPN/ml. Sehingga pada hasil terdapat adanya korelasi jumlah bakteri setelah dilakukan kontaminasi buatan sampel.

Berdasarkan penelitian sebelumnya belum pernah ada data penelitian metode *miniaturized Most Probable Number* (mMPN) di Indonesia, oleh sebab itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian mengenai metode mMPN dengan menggunakan bakteri *coliform*. Penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan *kit portable* sehingga dapat digunakan oleh siapapun dan dimanapun. Sebelum pengujian ini dilakukan oleh masyarakat luas, peneliti melakukan pengujian dengan pengaruh penyimpanan media *fresh* (media yang baru dibuat) dan penyimpanan media selama 3 bulan. Penyimpanan dilakukan 3 bulan, dikarenakan pada saat metode mMPN digunakan dapat meminimalisir waktu penuangan media sehingga media dapat disimpan di kulkas selama 3 bulan.

B. Rumusan Masalah

Bagaimanakah pengaruh penyimpanan media terhadap pertumbuhan *coliform* dengan metode mMPN.

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Tujuan umum pada penelitian ini yaitu ingin mengetahui adanya pengaruh penyimpanan media terhadap pertumbuhan *coliform* dengan metode mMPN.

2. Tujuan Khusus

Penelitian ini bertujuan khusus guna :

- a. Mengetahui pengaruh penyimpanan media *fresh* terhadap pertumbuhan bakteri *coliform*.
- b. Mengetahui pengaruh penyimpanan media selama 3 bulan terhadap pertumbuhan bakteri *coliform*.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat bermanfaat, meliputi :

1. Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini dapat meningkatkan pengetahuan mengenai metode mMPN dalam mengetahui adanya bakteri *coliform* dengan menggunakan pengaruh waktu penyimpanan media yang berbeda.

2. Bagi Institusi

Hasil penelitian ini dapat memberikan literatur dan materi baru mengenai pertumbuhan bakteri *coliform* dengan menggunakan metode mMPN menggunakan pengaruh waktu penyimpanan media yang berbeda.

3. Bagi Masyarakat

Hasil penelitian yang peneliti lakukan dapat memberikan serta memperluas pengetahuan informasi mengenai produk pemeriksaan air minum dalam mendeteksi adanya bakteri *coliform* menggunakan metode mMPN.

BAB II

TELAAH PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Air Minum

Air merupakan sumber kehidupan manusia, hal ini yang sering menjadi masalah bagi banyak penduduk di dunia. Menurut Menteri Kesehatan Republik Indonesia (MenKes RI) mengenai masalah kuantitas air yang tidak mencukupi dan belum memenuhi syarat air baik untuk di konsumsi dari segi fisik, kimia, mikrobiologis dan radioaktif. (Sekarwati dan Wulandari, 2016).

Jumlah penduduk yang semakin hari semakin bertambah mengakibatkan kebutuhan air bersih semakin meningkat. Air ini selain dapat diminum manusia juga dapat digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri *coliform*. Bakteri yang terdapat pada air menandakan bahwa air tersebut sudah pernah tersemar oleh kotoran manusia (Rahayu dkk, 2013).

2. Bakteri *coliform*

Bakteri *coliform* merupakan jenis bakteri yang memiliki sifat membahayakan kesehatan manusia. Bakteri ini dapat digunakan sebagai indikator untuk menentukan kualitas air minum yang layak untuk dikonsumsi manusia. Bakteri *coliform* adalah bakteri Gram negatif (-) yang berbentuk basil, tidak berspora, anaerob fakultatif dan dapat mengfermentasi laktosa dengan menjadikan media menjadi asam serta gas dalam jangka waktu 48 jam dengan suhu 35°C (Sunarti, 2015).

Bakteri *coliform* terdapat 2 jenis yaitu bakteri *coliform* fekal dan non-fekal. Bakteri yang tergolong *coliform* fekal yaitu *Escherichia coli*. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri *coliform* Gram negatif yang mampu memfermentasi laktosa, dengan ciri – ciri berbentuk batang, tidak

memiliki spora dan dapat hidup secara normal didalam kotoran manusia ataupun hewan, oleh karena itu bakteri tersebut masuk kedalam jenis bakteri *coliform* fekal (Jawetz et al., 2008). Menurut Tarina dan Kusuma (2021) bakteri yang tergolong *coliform* non-fekal salah satunya *Klebsiella pneumonia* Bakteri ini dapat ditemukan pada makhluk hidup yang telah mati. Bakteri *Klebsiella pneumonia* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang, tidak membentuk spora, tidak memiliki flagel tetapi dapat memfermentasi karbohidrat serta membentuk asam dan gas.

3. Pemeriksaan bakteri *coliform*

a. Angka Lempeng Total (ALT)

ALT merupakan salah satu metode yang digunakan untuk menghitung pertumbuhan koloni bakteri yang bersifat aerob mesofil. Bakteri aerob mesofil merupakan mikroba yang dapat tumbuh pada suhu 37°C. Pengujian metode ALT dilakukan dengan menghitung bakteri yang terdapat pada media agar. Prinsip pengujian ALT yaitu pertumbuhan bakteri aerob mesofil setelah diinokulasikan pada media cawan agar dengan cara tuang dan diinkubasi pada suhu yang sesuai (Styawan dan Al'Azzah, 2018).

b. *Most Probable Number* (MPN)

MPN adalah jenis uji yang digunakan untuk menentukan jumlah *coliform* dalam air. *Miniaturized Most Probable Number* (mMPN) merupakan metode yang telah di modifikasi dengan menggunakan microplate sebagai alat isolasinya untuk menggantikan tabung reaksi. Metode ini memiliki cara dan prinsip yang sama dengan metode MPN pada umumnya, yang membedakan hanyalah biaya, waktu dan proses pengerjaannya yang lebih praktis. *Coliform* yang terdapat dalam tabung mikroplate dapat diketahui dengan terjadinya perubahan warna pada media *lactose broth*. Hasil yang didapatkan kemudian dibandingkan dengan skala nilai MPN (Mion et al., 2016).

Keberadaan bakteri *coliform* dapat dilakukan dengan menggunakan 3 macam uji yaitu uji penduga, uji penegas, dan uji pelengkap. Uji penduga dilakukan dengan menggunakan media lactose broth yang digunakan untuk mengetahui adanya bakteri *coliform* pada sampel air. Hasil positif di tandai dengan adanya kekeruhan dan gas pada tabung Durham. Uji penegas, uji ini dilakukan dengan menggunakan media *Brilliant Green* yang digunakan untuk meyakinkan bakteri yang terkandung merupakan *coliform*. Selanjutnya yaitu uji pelengkap, uji ini dilakukan dengan menanam bakteri yang terdapat di tabung dan membentuk gas pada media *Eosin Methylene blue*. Media ini digunakan untuk mengkonfirmasi bakteri pada tabung, adanya bakteri *coliform Klebsiella* di tandai dengan terbentuknya koloni berbentuk bulat, tepi rata, dan berwarna merah atau merah muda (Utami dan Miranti, 2020).

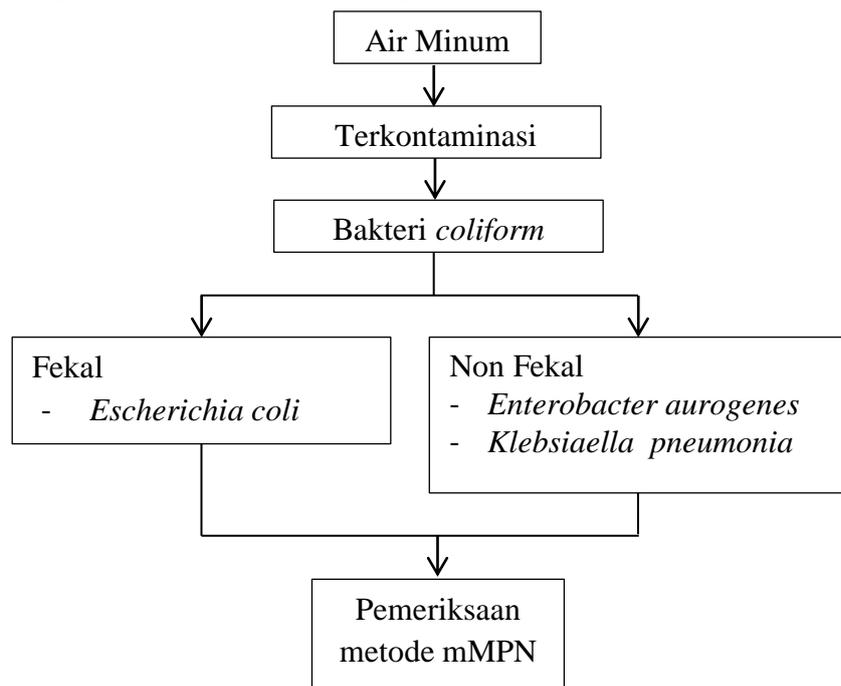
Nilai MPN merupakan nilai perkiraan jumlah koloni atau bakteri yang tumbuh di dalam sampel. Satuan yang biasanya digunakan pada metode ini yaitu per 100 ml atau gram. Perhitungan dilakukan dengan berdasarkan jumlah tabung yang positif, ditandai dengan perubahan warna yang terjadi pada media (Kuswiyanto, 2015).

Tabel 2. 1 Tabel MPN untuk 3 seri tabung dengan 0,1;0,001; dan 0,0001 g.

Tabel MPN untuk 3 seri tabung dengan 0,1, 0,01 dan 0,001 g inokulum (95 % confidence intervals)											
Tabung positif			MPN/g	Coef. lim.		Tabung positif			MPN/g	Coef. lim.	
0.10	0.01	0.001		bwab	alas	0.10	0.01	0.001		bwab	alas
0	0	0	<3.0	—	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	—

B. Kerangka Teori

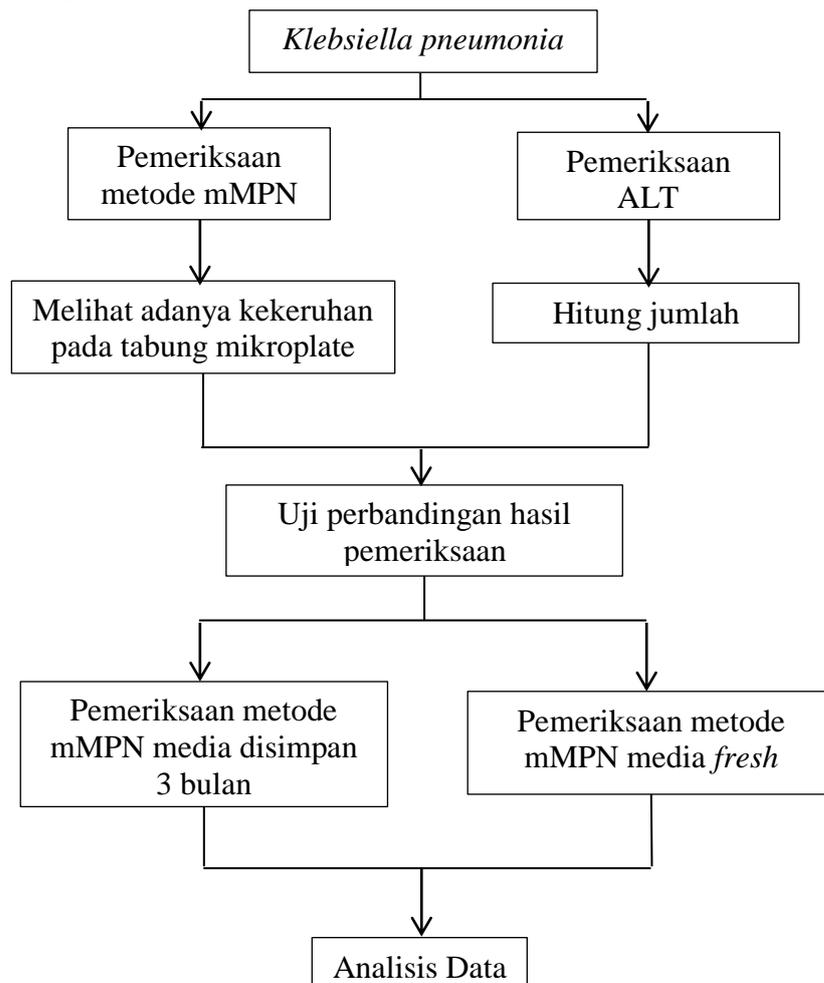
Kerangka teori ini dilakukan dengan :



BAB III
KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

A. Kerangka Konsep

Bakteri *coliform* (*Klebsiella pneumonia*) yang berasal dari sampel PUS seorang pasien di rumah sakit swasta kota Bekasi dilakukan uji mMPN untuk mendapatkan hasil positif pada lubang plate yang di tandai dengan adanya kekeruhan, kemudian hasil di bandingkan dengan uji ALT yang dilakukan dengan menghitung jumlah bakteri dengan *coloni counter*. Apabila hasil yang perbandingan tidak terdapat jumlah secara signifikan maka di lanjutkan dengan uji mMPN menggunakan media yang di simpan selama 3 bulan dan media yang masih *fresh*.



B. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini adalah :

- Ha : Terdapat perbedaan secara nyata rata – rata pengaruh penyimpanan mMPN media *fresh* dan disimpan 3 bulan terhadap pertumbuhan bakteri *coliform* dengan metode.
- Ho : Tidak terdapat perbedaan secara nyata rata – rata pengaruh penyimpanan media *fresh* dan disimpan 3 bulan terhadap pertumbuhan bakteri *coliform* dengan metode mMPN.

BAB IV

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimen dengan menggunakan 2 variabel yaitu bebas dan terikat. Intervensi atau perlakuan yang digunakan yaitu pengaruh lamanya penyimpanan media. Penelitian ini melakukan pemeriksaan *coliform* dengan metode mMPN untuk mengetahui adanya pengaruh terhadap jumlah *coliform* pada media yang disimpan dan fresh.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium 305 STIKes Mitra Keluarga, pada bulan Februari - Juni 2023.

C. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *coliform* (*Klebsiella pneumoniae*) yang berasal dari pus pasien di salah satu rumah sakit swasta di kota Bekasi.

D. Variabel Penelitian

Variabel bebas yang digunakan yaitu pengaruh penyimpanan media dan variabel terikat yaitu jumlah bakteri *coliform*.

E. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Penyimpanan Media	Penyimpanan media dilakukan dilakukan selama 3 bulan untuk mengetahui pengaruh terhadap pertumbuhan <i>coliform</i>	Waktu	Pemberian waktu 3 bulan	Hari	Interval
Jumlah bakteri <i>Coliform</i>	Mengetahui Jumlah bakteri <i>coliform</i> yang di hitung dengan membandingkan hasil dengan table MPN dalam satuan CFU/ ml.	Tabel MPN	<i>Miniaturized Most Probable Number</i>	Jumlah bakteri dalam CFU/ mL	Rasio

F. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah erlenmayer, gelas ukur, mikroplate, mikropipet, spirtus, inkubator, *Autoclave* Hirayama Hicvlave HG-50, neraca analitik, hotplate, alumunium foil, kapas, kulkas, Spektrofotometer thermo scientific genesys 940-208100 UV VIS, tabung reaksi, ose, mikrotube, *cotton bud*.

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah media *Brain Heart Infusion Broth*, media *lactose broth*, media *Tryptic Soy Agar*, media Endo Agar NaCl 0,9 %, aquadest.

G. Prosedur Kerja

1. Pembuatan Media

a. Media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS)

Media *Lactose Broth* di timbang 13 gram dengan menggunakan neraca analitik, lalu dimasukkan ke dalam erlenmayer. Kemudian, tambahkan dengan menggunakan 1 liter aquadest dan dihomogenkan diatas hotplate sampai mendidih lalu media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media di inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan bahwa media dalam keadaan steril dan tidak terkontaminasi sebelum di inokulasi (Kamaliah, 2017).

b. Media *Lactose Broth Double Strength* (LBDS)

Media *Lactose Broth* di timbang 26 gram dengan menggunakan neraca analitik, lalu dimasukkan ke dalam erlenmayer. Kemudian, tambahkan dengan menggunakan 1 liter akuades dan dihomogenkan diatas hotplate sampai mendidih lalu media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media di inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan bahwa media dalam keadaan steril dan tidak terkontaminasi sebelum di inokulasi (Kamaliah, 2017).

c. Media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB)

Media BHIB di timbang 37 gram dengan menggunakan neraca analitik, lalu dimasukkan ke dalam erlenmayer. Kemudian, tambahkan dengan menggunakan 1 liter akuades dan dihomogenkan diatas hotplate sampai mendidih lalu media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media

di inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan bahwa media dalam keadaan steril dan tidak terkontaminasi sebelum di inokulasi (Beheshti M dkk., 2014).

d. Media *Tryptic Soy Agar* (TSA)

Media TSA di timbang 40 gram dengan menggunakan neraca analitik, lalu dimasukkan ke dalam erlenmayer. Kemudian, tambahkan dengan menggunakan 1 liter akuades dan dihomogenkan diatas hotplate sampai mendidih lalu media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi di tuangkan pada cawan petri dan di inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan bahwa media dalam keadaan steril dan tidak terkontaminasi sebelum digunakan (Nurjanna dan Fajrihanif, 2016).

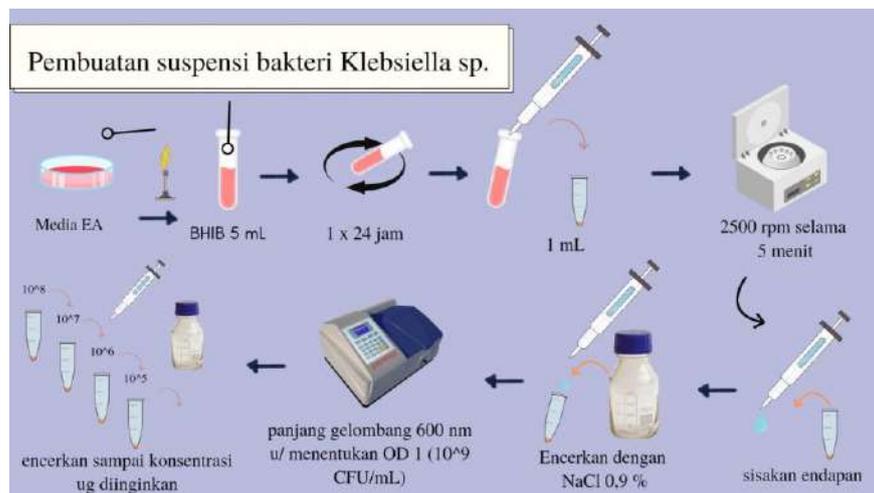
e. Media *Endo Agar* (EA)

Media EA di timbang 41,5 gram dengan menggunakan neraca analitik, lalu dimasukkan ke dalam erlenmayer. Kemudian, tambahkan dengan menggunakan 1 liter aquadest dan dihomogenkan diatas hotplate sampai mendidih lalu media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi di tuangkan pada cawan petri dan di inkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan bahwa media dalam keadaan steril dan tidak terkontaminasi sebelum digunakan (Indrayati dkk., 2018).

2. Pembuatan Suspensi bakteri *Klebsiella sp.*

Bakteri yang terdapat pada media EA dicangkul dengan ose steril, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi media BHIB 5 mL. Tabung dihomogenkan di atas rotator selama 1 x 24 jam. Setelah itu, media di pindahkan ke dalam mikrotube sebanyak 1 ml dan disentrifus kecepatan 2.500 rpm selama 5 menit pada suhu 37°C, kemudian supernatan dibuang dan endapan diencerkan dengan NaCl

0,9%. Ukur absorban dengan menggunakan spektro untuk mendapatkan OD 1 (1×10^9 CFU/ml) dengan panjang gelombang 600 nm. Kemudian, suspensi tersebut diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai dengan konsentrasi 10^1 CFU/ml (Magesh dkk., 2013; Horváth dkk., 2020).



Gambar 4. 1 Pembuatan suspensi bakteri *Klebsiella* sp.

3. Uji coba perbandingan ALT dan mMPN

a. Angka Lempeng Total

Setelah melakukan pengenceran bertingkat sampai 10^1 kemudian dilakukan penanaman koloni pada media NA dengan cara pipet 1000 μ l pada pengenceran 10^{-1} , 100 μ l pada pengenceran 10^{-1} dan 10^{-1} , kemudian diinkubasi pada alat inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah bakteri tumbuh pada media NA, hitung jumlah bakteri yang terdapat pada media dengan alat coloni counter. Media yang terdapat bakteri diletakkan diatas nyala terang atau LED.

Syarat koloni yang di hitung ialah:

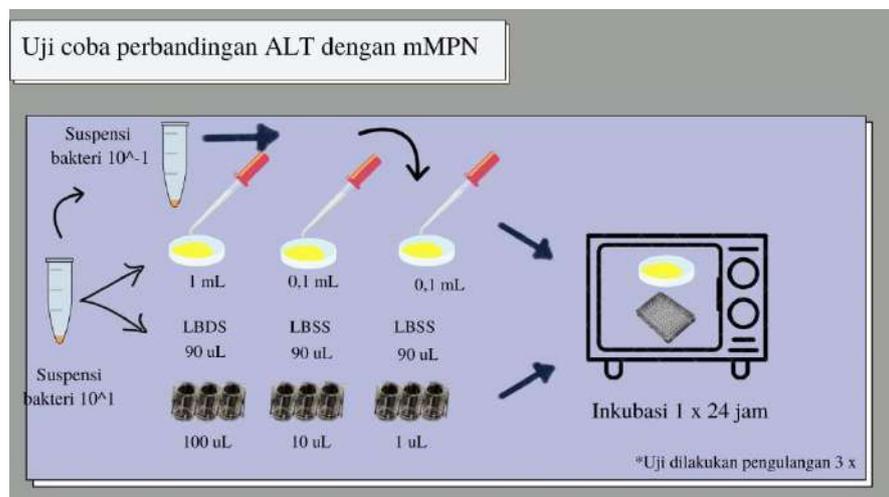
- 1) Satu koloni dihitung 1 koloni.
- 2) Dua koloni yang bertumpuk dihitung 1 koloni.
- 3) Beberapa koloni yang berhubungan dihitung 1 koloni.
- 4) Koloni yang tumbuh setengah cawan petri dihitung 1 koloni.
- 5) Koloni yang tumbuh lebih dari setengah cawan petri tidak dihitung.

6) Dua koloni yang berhimpitan dan masih dapat dibedakan dihitung (Irianto, 2013).

b. *Miniaturized Most Probable Number* (mMPN)

Mikroplate disiapkan untuk suspensi bakteri. Kemudian, media LBDS dimasukkan kedalam 3 lubang mikroplate dan media LBSS di masukkan ke dalam 6 lubang mikroplate sebanyak 90 ul. Masing masing lubang diurutkan dan diberi label nama. Lalu, suspensi bakteri di masukkan sebanyak 100 ul ke dalam 3 lubang mikroplate LBDS, 10 ul ke dalam 3 lubang mikroplate LBSS dan 1 ul ke dalam 3 lubang mikroplate LBSS. Masing – masing tabung dihomogenkan dan inkubasi di dalam inkubator selama 1 x 24 jam. Setelah itu dilihat ada tidaknya perubahan warna yang terjadi pada media. Hasil yang terlihat dibandingkan dengan skala MPN (Sunarti, 2015).

*lakukan pengulangan pengerjaan sebanyak 3 kali



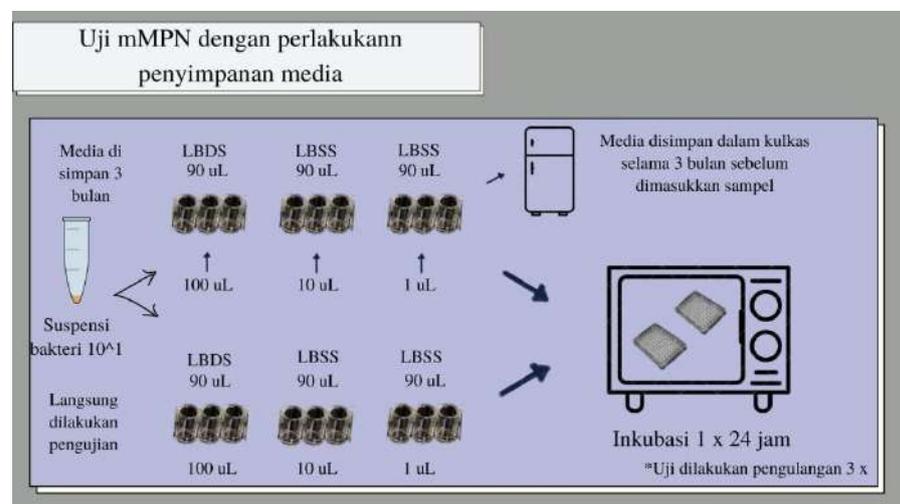
Gambar 4. 2 Uji coba perbandingan jumlah bakteri *coliform* dengan metode ALT dan mMPN

4. Pengujian mMPN dengan perlakuan penyimpanan media

Media yang telah disimpan selama 3 bulan dan media yang *fresh* disiapkan. Mikroplate disiapkan sebanyak 2 untuk media yang telah disimpan dan *fresh*. Kemudian, masukkan kedalam 3 lubang mikroplate media LBDS dan 6 lubang mikroplate media LBSS sebanyak 90 ul untuk

ke 2 mikroplate. Masing masing lubang diurutkan. Lalu, sampel diambil dengan mikropipet dan dimasukkan sebanyak 100 ul ke dalam 3 lubang mikroplate LBDS, 10 ul ke dalam 3 lubang mikroplate LBSS dan 1 ul ke dalam 3 tabung mikroplate LBSS. Masing – masing mikroplate dihomogenkan dan inkubasi mikroplate di dalam incubator selama 1 x 24 jam. Setelah itu dilihat ada tidaknya perubahan warna yang terjadi pada media. Hasil yang terlihat dibandingkan dengan skala MPN (Sunarti, 2015).

*lakukan pengulangan pengerjaan sebanyak 3 kali



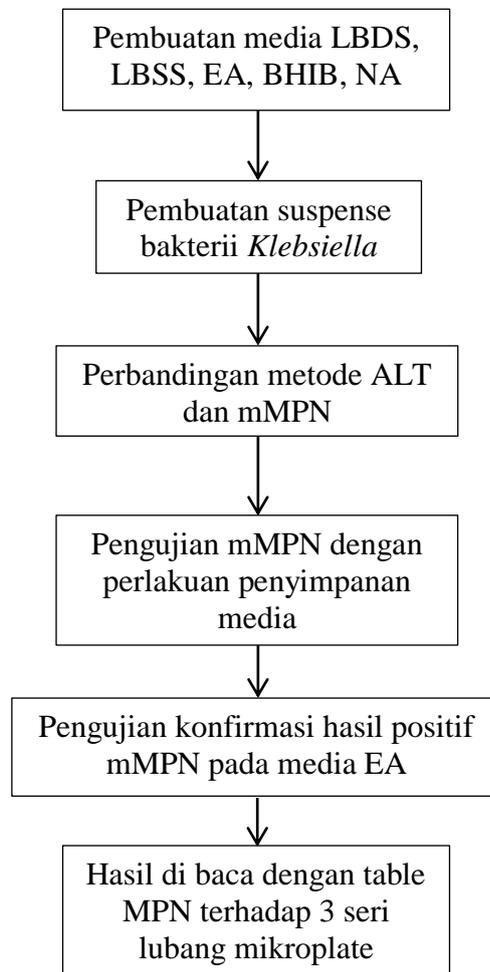
Gambar 4. 3 Uji mMPN dengan perlakuan penyimpanan media dengan menggunakan *coliform* (*Klebsiella pneumoniae*)

5. Uji konfirmasi bakteri yang tumbuh pada mikroplate mMPN

Lubang mikroplate positif yang ditandai dengan adanya kekeruhan diambil dengan menggunakan *cotton bud* steril, kemudian ujung *cotton bud* yang terdapat bakteri di inokulasikan pada media EA dengan teknik kuadran. Media EA di inkubasi selama 1 x 24 jam.

H. Alur Penelitian

Alur penelitian dilakukan dengan melakukan :



I. Pengolahan dan Analisa Data

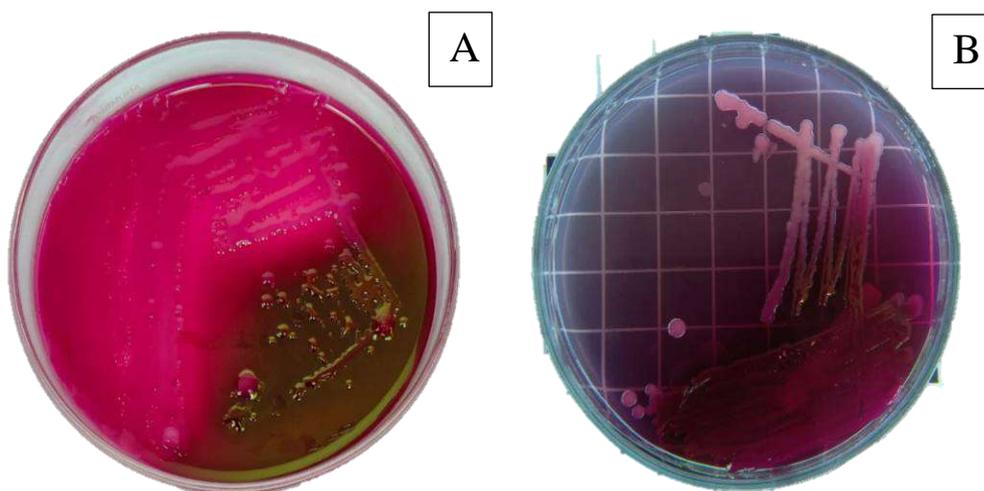
Pengolahan data pada penelitian ini adalah dengan menggunakan uji statistik dengan uji normalitas dan dilanjutkan dengan uji *paired t test independent* apabila data berdistribusi normal. Jika data tidak berdistribusi normal, maka dapat menggunakan uji *Mann-Whitney u*. Uji normalitas yang dilakukan menggunakan Uji Shapiro-Wilk karena data yang digunakan kurang dari 50. *Paired sample t-test* merupakan salah satu metode pengujian yang digunakan untuk mengkaji keefektifan perlakuan yang ditandai adanya perbedaan rata-rata sebelum dan sesudah diberikan perlakuan (Fatmawati dan Afgani, 2017).

BAB V

HASIL PENELITIAN

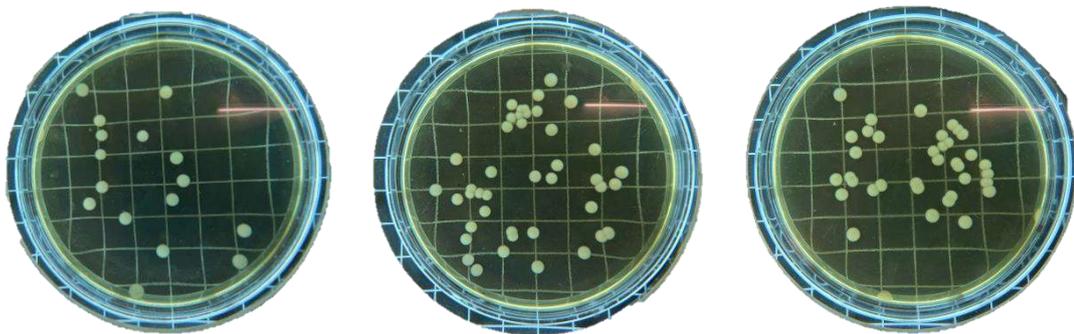
Penelitian ini dilakukan di laboratorium 305 STIKes Mitra Keluarga Kota Bekasi pada bulan Februari – Maret dan Mei – Juni 2023. Sampel pada penelitian ini menggunakan *Klebsiella pneumonia* dari pus seorang pasien di salah satu rumah sakit swasta di kota Bekasi. Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahap yaitu pembuatan isolat bakteri pada media Endo Agar (EA), kultur bakteri untuk menentukan OD 1, pengenceran isolat sampai konsentrasi 10^1 , membandingkan metode mMPN dengan ALT dan melakukan uji pengaruh penyimpanan media selama 3 bulan dan fresh dengan metode mMPN.

Penelitian awal dilakukan konfirmasi terhadap bakteri yang diambil merupakan bakteri *Klebsiella* sp. yang berasal dari laboratorium STIKes Mitra Keluarga. Bakteri yang terdapat pada media agar dicangkul, kemudian diinokulasikan pada media EA dan di masukkan ke dalam inkubator selama 1 x 24 jam. Penelitian ini dilakukan sebanyak 2 kali dengan menggunakan konsentrasi 10^1 .



Gambar 5. 1 koloni *Klebsiella pneumonia* yang digunakan untuk (A) pengujian dengan membandingkan metode ALT dan mMPN, dan (B) pengujian dengan membandingkan metode mMPN terhadap pengaruh penyimpanan media menggunakan pengenceran 10^1

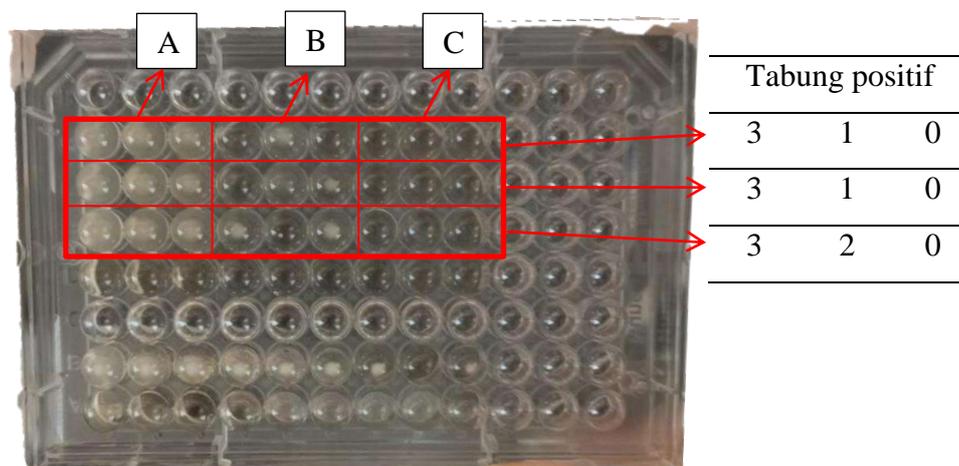
Gambar 5.1 menunjukkan 2 bakteri *Klebsiella pneumonia* yang tumbuh pada media Endo Agar. Bakteri yang tumbuh pada media EA dicangkul dengan ose steril dan dimasukkan ke dalam cuvet yang berisi nacl 0,9% untuk diukur nilai OD 1 (10^9 CFU/ ml). Nilai OD 1 (10^9 CFU/ ml) yang didapatkan, kemudian diencerkan sampai dengan 10^1 untuk digunakan uji perbandingan metode mMPN dan ALT.



Gambar 5. 2 Uji ALT pada media TSA dengan 3 kali pengulangan menggunakan konsentrasi 10^1

Tabel 5. 1 Jumlah bakteri pada metode ALT

Konsentrasi	Jumlah koloni (CFU/ml)		
	Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III
10	17	43	38
Rata - rata	33		



Gambar 5. 3 Uji mMPN dengan 3 kali pengulangan yang berisi pada lubang plate (A) 100 μ l sampel + 90 μ l media LBDS, (B) 10 μ l sampel + 90 μ l media LBSS, (C) 1 μ l + 90 μ l media LBSS.

Tabel 5. 2 Jumlah bakteri pada metode mMPN

Konsentrasi 10			
Tabung positif			CFU/ml
3	1	0	43
3	1	0	43
3	2	0	93
Rata - rata			60

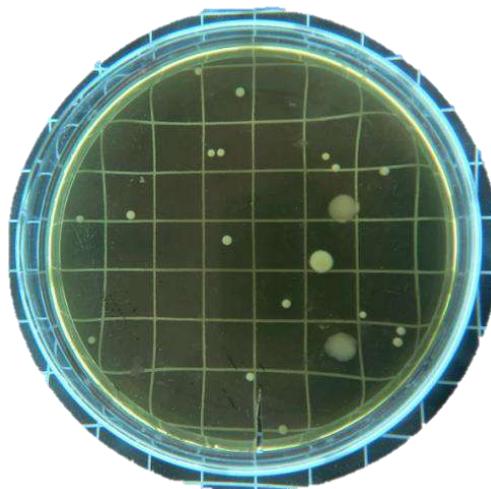
Tabel 5.1 dan 5.2 menunjukkan jumlah bakteri dengan rata – rata pada metode ALT 33 CFU/ml dan metode mMPN 60 CFU/ml. Hasil ini kemudian akan dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji *paired t test independent* dengan melakukan uji normalitas dan homogenitas. Jika hasil data tidak terdistribusi normal dan homogeny maka uji statistik yang digunakan adalah non parametrik yaitu *Mann Whitney u*.

Tabel 5. 3 Uji *Mann whitney u* perbandingan metode ALT dan mMPN

Faktor yang mempengaruhi	Sig. (p<0,050)
Jumlah bakteri	0.105

Tabel 5.3 menunjukkan nilai sig. perbandingan metode ALT dan mMPN, didapatkan nilai sig. 0,105. Nilai sig. ini menandakan H0 diterima karena nilai sig. $0,105 > 0,05$, yang artinya tidak terdapat perbedaan rata – rata yang signifikan secara nyata jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN.

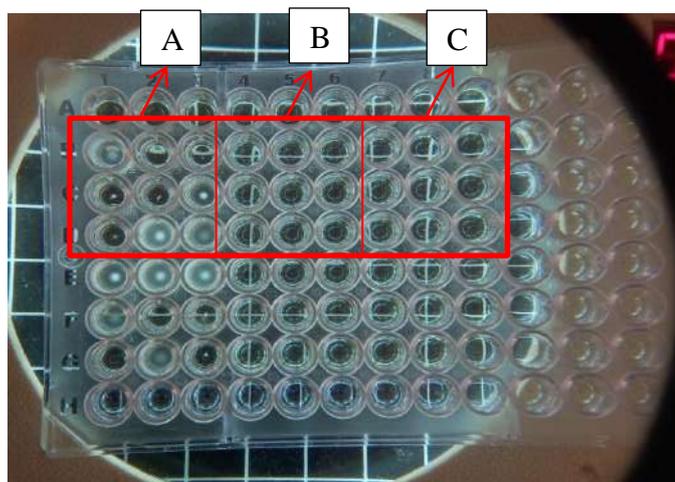
Jumlah bakteri yang tidak terdapat perbedaan ini membuat peneliti melakukan penelitian kembali dengan membandingkan jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN dengan menggunakan koloni bakteri *K. pneumonia* yang telah diencerkan sampai 10^1 .



Gambar 5. 1 Koloni bakteri pada konsentrasi 10^1 metode ALT

Tabel 5. 4 Jumlah bakteri pada metode ALT

Jumlah koloni (CFU/mL)				
Konsentrasi	Pengulangan I	Pengulangan II	Pengulangan III	Rata – rata
10^1	13	16	19	16



Gambar 5. 2 Bakteri *coliform* pada konsentrasi 10^1 metode mMPN yang berisi (A) 100 µl sampel + 90 µl media LBDS, (B) 10 µl sampel + 90 µl media LBSS, (C) 1 µl + 90 µl media LBSS.

Tabel 5. 5 Jumlah bakteri pada metode mMPN

Konsentrasi 10^1			
	Tabung positif		CFU/ml
1	0	0	3,6
2	0	0	9,2
2	0	0	9,2
Rata - rata			7,3

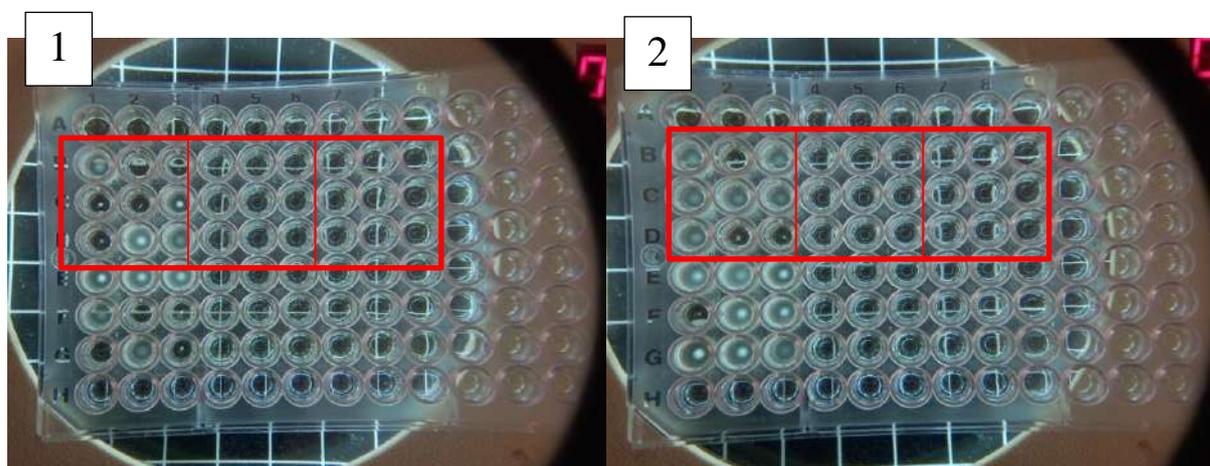
Tabel 5.4 dan 5.5 menunjukkan jumlah bakteri dengan rata – rata pada metode ALT = 16 CFU/ml dan metode mMPN = 7,3 CFU/ml. Hasil ini kemudian akan dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji *paired t test independent* dengan melakukan uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu. Jika data tidak normal dan homogen, maka dilakukan uji non parametric yaitu *Mann Whitney u*.

Tabel 5. 6 Uji *Mann-Whitney u* perbandingan metode ALT dan mMPN

Faktor yang mempengaruhi	Sig. (p<0,050)
Jumlah bakteri	0.056

Tabel 5.6 menunjukkan nilai sig. 0,056 perbandingan metode ALT dan mMPN, didapatkan nilai sig. 0,056. Nilai sig. ini menandakan H_0 diterima karena nilai sig. $0,056 > 0,05$, yang artinya tidak terdapat perbedaan rata – rata yang signifikan secara nyata jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN.

Tidak terdapatnya perbedaan rata rata jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN secara nyata membuat peneliti dapat melakukan ke tahap berikutnya yaitu membandingkan pengaruh penyimpanan media yang di simpan selama 3 bulan dengan yang masih *fresh* menggunakan metode mMPN konsentrasi 10^1 .

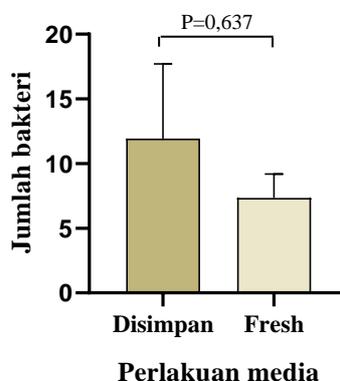


Gambar 5. 3 Hasil mMPN pada media (1) *Fresh* dan (2) Disimpan selama 3 bulan yang berisi (A) 100 μ l sampel + 90 μ l media LBDS, (B) 10 μ l sampel + 90 μ l media LBSS, (C) 1 μ l + 90 μ l media LBSS.

Tabel 5. 7 perbandingan jumlah bakteri pada media yang *fresh* dan disimpan selama 3 bulan dengan menggunakan konsentrasi 10^1

Fresh				Disimpan			
Tabung positif		CFU/ml		Tabung positif		CFU/ml	
1	0	0	3,6	2	0	0	9,2
2	0	0	9,2	3	0	0	23
2	0	0	9,2	1	0	0	3,6
Rata - rata			7,3	Rata - rata			11,9

Grafik jumlah bakteri mMPN



Gambar 5. 4 Grafik jumlah bakteri mMPN dengan pengaruh penyimpanan

Tabel 5.7 dan Gambar 5.6 menunjukkan jumlah bakteri dengan rata – rata pada metode mMPN yang menggunakan media *fresh* konsentrasi $10^1 = 7,3$ CFU/ml, kemudian pada media yang telah di simpan selama 3 bulan di dapatkan jumlah = 11,9 CFU/ml. Gambar 5.7 menunjukkan jumlah bakteri pada media yang disimpan memiliki rata – rata lebih tinggi di bandingkan media yang masih fresh (baru dibuat). Kedua metode mMPN didapatkan jumlah bakteri pada media yang disimpan terdapat jumlah bakteri dengan rata – rata lebih tinggi dibandingkan dengan media yang fresh. Hasil ini kemudian akan dilakukan uji statistik dengan menggunakan dengan uji *Mann-Whitney u*.

Tabel 5. 8 Uji *Mann whitney u* perbandingan uji mMPN dengan media yang fresh dan disimpan 3 bulan

Faktor yang mempengaruhi	Sig. (p<0,050)
Jumlah bakteri	0.637

Berdasarkan tabel 5.8 dilakukan uji *Mann-Whitney u* karena data tidak terdistribusi normal dan homogen. Nilai yang di dapatkan pada uji statistik ini yaitu sig. 0,637. Nilai yang di dapatkan ini menandakan H_0 diterima yang artinya tidak terdapat pengaruh perbedaan secara nyata rata – rata jumlah bakteri pada metode mMPN dengan pengaruh penyimpanan media *fresh* dan disimpan selama 3 bulan.

Setelah didapatkan hasil pada mikroplate, siapkan *cotton bud* steril untuk dicelupkan pada lubang plate yang mengalami kekeruhan. *Cotton bud* di inokulasikan pada media EA dengan teknik kuadran untuk mengkonfirmasi bakteri yang tumbuh pada mMPN adalah bakteri coliform (*Klebsiella pneumonia*), kemudian di inkubasi pada inkubator selama 1 x 24 jam.



Gambar 5. 5 Uji konfirmasi bakteri pada mMPN dengan media EA

BAB VI

PEMBAHASAN

Diare adalah penyakit yang dapat disebabkan akibat seseorang mengonsumsi minuman yang terkontaminasi salah satunya oleh bakteri *coliform*. Bakteri *coliform* merupakan bakteri yang digunakan untuk mengetahui apakah air yang dikonsumsi baik untuk kesehatan atau tidak. Menurut Sunarti (2015) menyatakan bahwa bakteri *coliform* merupakan bakteri Gram negatif (-) yang berbentuk basil, tidak berspora, anaerob fakultatif dan dapat mengfermentasi laktosa dengan menjadikan media menjadi asam serta gas dalam jangka waktu 48 jam dengan suhu 35°C. Bakteri *coliform* terdapat 2 jenis yaitu bakteri *coliform* fekal dan non-fekal. Contoh bakteri fekal yaitu *Escherichia coli* berasal dari tinja manusia sedangkan bakteri non fekal yaitu *Enterobacteria sp.* dan *Klebsiella pneumonia* yang berasal dari hewan atau tumbuhan yang telah mati.

Sampel yang digunakan pada penelitian ini yaitu bakteri *coliform* non-fekal (*Klebsiella pneumonia*) yang berasal dari pus seorang pasien di salah satu rumah sakit swasta di kota Bekasi. Menurut Ekawati dkk (2018), luka infeksi yang terdapat pada permukaan kulit sangat mudah untuk dikontaminasi oleh berbagai macam organisme. Bakteri *Klebsiella pneumonia* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan adanya pus (nanah) pada luka yang terinfeksi di permukaan kulit. Menurut Oktaviani (2018) bakteri *Klebsiella pneumonia* paling banyak ditemukan dan berkembang biak di air yang mempunyai nutrisi tinggi untuk tempat bakteri ini hidup, seperti pada limbah batik. Bakteri *Klebsiella pneumonia* juga terdeteksi didalam air yang tercemar limbah.

Koloni bakteri *Klebsiella pneumonia* kemudian dilakukan inokulasi pada media Endo Agar (EA). Media EA digunakan karena media ini mengandung eosin dan metilen biru yang dapat menghambat tumbuhnya bakteri Gram positif yang membuat bakteri gram negatif lebih banyak dan mengetahui kemampuan bakteri dalam memfermentasi laktosa. Setelah diinkubasi, media EA mengalami

pertumbuhan koloni bakteri dengan ciri – ciri bakteri berbetuk bulat, cair, dan berwarna merah muda sampai merah tua metalik. Menurut Cappucino (2013), koloni bakteri *Klebsiella sp.* pada media EA tebal, berbentuk bulat, dan berwarna merah muda sampai merah metalik.

Koloni yang tumbuh pada media EA, selanjutnya dilakukan proses kultur bakteri dengan menggunakan media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) yang merupakan media penyubur untuk menumbuhkan mikroorganisme. Adanya mikroorganisme tersebut di tandai dengan media yang mengalami kekeruhan setelah di inkubasi selama 24 jam, hal ini terjadi karena media BHIB kaya akan protein dan karbohidrat yang di perlukan oleh bakteri untuk tumbuh dan berkembang biak seperti dekstrosa, sodium klorida, sodium sulfit dan casein pepton (Indrayati dkk., 2018). Menurut Napitupulu dkk (2019), kultur bakteri ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan isolat – isolat bakteri yang terdapat pada media BHIB. sebelum dilakukan pengujian isolat bakteri tersebut dilakukan pengenceran untuk mendapatkan isolat yang murni.

Isolat bakteri yang telah diencerkan kemudian dilakukan pengujian dengan menggunakan konsentrasi 10^1 untuk membandingkan jumlah bakteri pada metode Angka Lempeng Total (ALT) dan *miniaturized Most Probable Number* (mMPN). Pada perbandingan metode ini didapatkan jumlah bakteri dengan rata – rata pada metode ALT 33 CFU/ml dan metode mMPN 60 CFU/ml. Setelah dilakukan uji statistic *Mann Whitney u* didapatkan sig. $0,105 > 0,05$, yang artinya tidak terdapat perbedaan rata – rata yang signifikan secara nyata jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN. Menurut Styawan dan Al’Azzah (2018), metode ALT dan MPN merupakan metode penelitian untuk menentukan jumlah bakteri, yang membedakan ialah pada metode ALT koloni bakteri dihitung dengan ditumbuhkan dahulu pada media agar sedangkan MPN jumlah bakteri dapat diketahui dengan adanya keruhan yang terdapat pada media cair yang jika terdapat bakteri.

Media yang digunakan pada metode ALT yaitu media *Tryptic Soy Agar* (TSA), media ini merupakan salah satu media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan cara inokulasi menggunakan sampel air. Komposisi media ini yaitu casein peptone, soya pepton, natrium klorida, dan agar (Nurjanna dan Fajrihanif, 2016). Pada metode mMPN peneliti menggunakan media *Lactose Broth* (LB). Menurut Jiwintarum, Y dkk (2017), media LB kaya akan karbohidrat yang membuat *coliform* dapat cepat berkembang biak dan menghasilkan gas, media ini memiliki 2 jenis yaitu *double strength* dan *single strength*. Kedua jenis tersebut memiliki perbedaan pada komposisinya. Media *Lactose Broth Double Strength* (LBDS) memiliki komposisi ekstrak daging sapi (3 g), pepton (5 g), laktosa (10 g), dan bromotimol biru (0,2%/ liter), sedangkan media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS) memiliki komposisi yang sama tetapi jumlah laktosanya yang berbeda yaitu 5 g.

Setelah dilakukan pengujian jumlah bakteri yang tidak terdapat perbedaan sehingga peneliti ingin melakukan penelitian kembali dengan membandingkan jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN, serta 2 metode mMPN dengan perbedaan lamanya penyimpanan media fresh dan 3 bulan pada hari yang berbeda dengan menggunakan bakteri *K. pneumonia* yang telah diencerkan sampai 10^1 . Hasil yang didapatkan menunjukkan jumlah bakteri dengan rata – rata pada metode ALT = 16 CFU/ml dan metode mMPN = 7,3 CFU/ml. Kemudian dilakukan statistik uji non parametrik yaitu *Mann Whitney u*, didapatkan nilai sig. $0,056 > 0,05$, yang artinya tidak terdapat perbedaan rata – rata yang signifikan secara nyata jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN. Menurut Sriwidadi (2011), *Mann Whitney u* termasuk dalam uji statistika non parametrik, uji statistik ini merupakan statistika bebas sebaran (tidak terdapat persyaratan khusus seperti normalitas dan homogenitas) yang dilakukan dengan menggunakan data berjenis nominal dan ordinal. Menurut penelitian yang sejalan Wulandari (2023), dengan identifikasi bakteri *coliform* pada susu sapi. Hasil penelitian menyatakan bahwa dari 30 sampel susu sapi di dapatkan hasil 7 (23,3%) sampel memenuhi

persyaratan angka lempeng total SNI, dan 10 (33,3%) sampel memenuhi syarat MPN maksimum SNI.

Dalam pengujian kedua perbandingan jumlah bakteri metode ALT dan mMPN didapatkan hasil tidak terdapat perbedaan rata – rata yang signifikan secara nyata jumlah bakteri pada metode ALT dan mMPN, hasil ini membuat peneliti dapat melakukan ke tahap berikutnya yaitu membandingkan pengaruh penyimpanan media yang di simpan selama 3 bulan dengan yang masih fresh menggunakan metode mMPN konsentrasi 10^1 . Menurut Rahayu dkk (2022), mengatakan semakin lama suatu media diletakkan pada suhu ruang maka akan semakin meningkat aktivitas mikroorganismenya, hal ini membuktikan apabila media disimpan pada kulkas maka mikroorganisme yang terdapat pada media akan terhambat.

Berdasarkan gambar 5.7 menunjukkan jumlah bakteri dengan rata – rata pada metode mMPN konsentrasi 10^1 yang menggunakan media fresh = 7,3 CFU/ml, kemudian pada media yang telah di simpan selama 3 bulan di dapatkan jumlah = 11,9 CFU/ml. Setelah dilakukan uji statistic *Mann Whitney u* didapatkan nilai sig. 0,637 > 0,05. Nilai yang di dapatkan ini menandakan H_0 diterima yang artinya tidak terdapat perbedaan secara nyata rata – rata jumlah bakteri pada metode mMPN dengan pengaruh penyimpanan media fresh dan disimpan selama 3 bulan. Menurut Oxoid (1991) yang merupakan salah satu perusahaan pembuat media baik padat atau cair menyatakan bahwa media non selektif yang sudah dilarutkan dan disterilkan, dapat disimpan pada lingkungan bersuhu dingin (*non freezer*) selama 6 bulan. Menurut Edita dkk (2015) menyatakan bahwa media non selektif adalah media pengaya yang mendukung pertumbuhan mikroorganisme. Media LB pada metode mMPN digunakan untuk mengetahui adanya bakteri *coliform* yang terdapat pada sampel yang ditandai dengan adanya kekeruhan dan gas, kemudian dibandingkan dengan tabel 2.1.

Setelah didapatkan hasil pada metode mMPN, peneliti melakukan inokulasi dari hasil kekeruhan yang terdapat pada lubang mikroplate. Pengujian ini di lakukan

dengan cara menyiapkan *cotton bud* steril untuk dicelupkan pada lubang plate yang mengalami kekeruhan, kemudian *cotton bud* di inokulasikan pada media EA dengan teknik kuadran untuk mengkonfirmasi bakteri yang tumbuh pada mMPN adalah bakteri *coliform* (*Klebsiella pneumonia*), kemudian di inkubasi pada inkubator selama 1 x 24 jam. Hasil yang didapatkan setelah 24 jam yaitu koloni bakteri yang berwarna merah muda, tepi rata dan berbentuk mukoid yang merupakan ciri – ciri bakteri *Klebsiella pneumonia* pada media EA (Bolla dkk., 2021). Bakteri yang tumbuh pada media EA ini merupakan bakteri yang berasal dari koloni awal pengujian yang memiliki ciri yang sama jika ditanam pada media Endo Agar.

BAB VII

KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat pengaruh perbedaan secara nyata rata – rata jumlah bakteri pada metode mMPN dengan pengaruh penyimpanan media *fresh* dan disimpan selama 3 bulan, dikarenakan nilai sig. yang didapatkan $0,637 > 0,05$. Jumlah bakteri yang didapatkan dengan rata-rata pada media yang fresh = 7,3 CFU/ml dan pada media yang telah di simpan selama 3 bulan = 11,9 CFU/ml.

B. Saran

Penelitian dapat dilanjutkan dengan melakukan pemeriksaan mMPN dengan menggunakan sampel seperti air minum.

DAFTAR PUSTAKA

- Beheshti M, K., Soleimani, A., & Salmanizad, S. (2014). Isolation And Identification Of *Klebsiella pneumonia* And *Klebsiella oxytoca* Bacteriophages And Their Application In Wastewater Treatment And *Coliform*'s Phage Therapy. *Research Journal Of Environmental Sciences*, 8(3), 123–133. <https://doi.org/10.3923/Rjes.2014.123.133>
- Bolla, N. E., Suarjana, I. G. K., & Gelgel, K. T. P. (2021). Isolasi Dan Identifikasi *Klebsiella* sp. Asal Rongga Hidung Babi Penderita Porcine Respiratory Disease Complex. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10 (6), 917–925. <https://doi.org/10.19087/Imv.2021.10.6.917>
- Blodgett, R. (2006). *Most Probable Number From Serial Dilution. Bacteriological Analytical Manual, Food And Drug Administration. BAM (Bacteriological Analytical Manual), Chapter 4. FDA (Food And Drug Administration).*
- Cappuccino, J. G., Dan Sherman, N. 2013. Manual Laboratorium Mikrobiologi Edisi 8. Alih Bahasa : Nur Miftahurrahmah. Jakarta: EGC.
- Colla, F., Rodrigues, L., Dickel, E., Nascimento, V., & Santos, L. (2014). Enumeration Of *Salmonella* sp. In Artificially Contaminated Chicken Meat. *Journal Of Biomedical Science*, 4 (1) , 7–11.
- Edita, E., Ahmad, I., & Rusli, R. (2015). Analisis Cemaran Mikroba Pada Ikan Asin Air Tawar Di Samarinda. *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-1*, 1 (1), 76 - 84
- Ekawati, E. R., Husnul Y., S. N., & Herawati, D. (2018). Identifikasi Kuman Pada Pus Dari Luka Infeksi Kulit. *Jurnal Sainhealth*, 2 (1), 31. <https://doi.org/10.51804/Jsh.V2i1.174.31-35>
- Fatmawati, & Afgani, Dan J. Al. (2017). Kompetensi Penilaian Dupak. *Agrosainta*, 1 (2), 25–36.
- Hilmarni, Ningsih, Z., & Ranova, R. (2018). Uji Cemaran Bakteri *Coliform* Pada Air Minum Isi Ulang Dari Depot Di Kelurahan Tarok Dipo Bukittinggi. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis*, 1 (1), 1–6.
- Horváth, M., Kovács, T., Koderivalappil, S., Ábrahám, H., Rákhely, G., & Schneider, G. (2020). Identification Of A Newly Isolated Lytic Bacteriophage Against K24 Capsular Type, Carbapenem Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates. *Scientific Reports*, 10 (1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/S41598-020-62691-8>
- Indrayati, S., Siti, D., & Akma, F. (2018). Peranan Monosodium Glutamat Sebagai Media Penyubur Alternatif Pengganti *Brain-Heart Infosion Broth* (BHIB) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis E*, 1 (1), 2622–2256.
- Irianto, K. (2013). Mikrobiologi Medis (*Medical Microbiology*), Alfabeta : Bandung
- Jawetz, Melinick, & Aldeberg. (2008). Mikrobiologi Kedokteran. *Mikrobiologi Kedokteran*, 23 (1), 251–257.

- Jiwintarum, Y., D. (2017). *Most Probable Number (MPN) Coliform Dengan Variasi Volume Media Lactose Broth Single Strength (LBSS) Dan Lactose Broth Double Strength (LBDS)*. *Jurnal Kesehatan Prima*, 11(1), 11–17.
- Kamaliah, K. (2017). Kualitas Sumber Air Tangkiling Yang Digunakan Sebagai Air Baku Air Minum Isi Ulang Dari Aspek Uji MPN Total *Coliform*. *Media Ilmiah Teknik Lingkungan*, 2(2), 5–12. <https://doi.org/10.33084/Mitl.V2i2.122>
- Kemenkes RI. (2019). Profil Kesehatan Indonesia. Jakarta : Kemenkes RI
- Kuswiyanto. (2015). Bakteriologi 1 Buku Ajar Analisis Kesehatan. EGC : Jakarta
- Magesh, H., Kumar, A., Alam, A., Priyam, Sekar, U., Sumantran, V. N., & Vaidyanathan, R. (2013). Identification Of Natural Compounds Which Inhibit Biofilm Formation In Clinical Isolates Of *Klebsiella Pneumoniae*. *Indian Journal Of Experimental Biology*, 51 (9), 764–772.
- Mion, L., Parizotto, L., Dos Santos, L. A., Webber, B., Cisco, I. C., Pilotto, F., Rodrigues, L. B., Do Nascimento, V. P., & Dos Santos, L. R. (2016). *Salmonella* sp. Isolated By Miniaturized Most Probable Number And Conventional Microbiology In Poultry Slaughterhouses. *Acta Scientiae Veterinariae*, 44(1). <https://doi.org/10.22456/1679-9216.81159>
- Napitupulu, H., Dkk. (2019) *Bacillus* Sp. Agensi Pengurai Dalam Pemeliharaan *Brachionus Rotundiformis* Yang Menggunakan Ikan Mentah Sebagai Sumber Nutrisi. *Jurnal Ilmiah Platax*, 7 (1) : 158 - 169
- Nurjanna, N., & Fajrihanif, A. (2016). Populasi Dan Pertumbuhan Bakteri Air Tambak Pada Media *Tryptic Soy Agar* (TSA) Dari Pabrik Yang Berbeda. *Buletin Teknik Litkayasa Akuakultur*, 8 (1), 71. <https://doi.org/10.15578/Blta.8.1.2009.71-73>
- Oxoid. 1991. *Thermofisher Scientific*. <http://www.oxoid.com/UK/Blue/Techsupport/Itsp=faq&faq=tsfaq007&cat=Culture+Media%2C+Supplements+and+Raw+Materials&lang=EN&C=UK#:~:text=Simple%20non%2Dselective%20bottled%20broths,The%20water%20used%20is%20pure>. Diakses Pada 15 Juni 2023 Pukul 19.00.
- Permenkes RI. (2010). Persyaratan Kualitas Air Minum. Jakarta : Permenkes RI
- Rahayu, C. S., Setiani, O., & Nurjazuli, N. (2013). Microbiological Contamination Risk Factor Of Drinking Water Refilling In Tegal Regency (Faktor Risiko Pencemaran Mikrobiologi Pada Air Minum Isi Ulang Di Kabupaten Tegal). *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 12 (1), 1–9. <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/jkli/article/view/5954>
- Rahayu, N. P. T. A., Agustina, K. K., & Swacita, I. B. N. (2022). Pengaruh Lama Peletakan Pada Suhu Ruang Terhadap Nilai Ph Dan Total Bakteri Daging Sapi Bali. *Buletin Veteriner Udayana*, 15 (8), 217. <https://doi.org/10.24843/Bulvet.2022.V14.I03.P04>
- Riza Linda, G. W. R. (2019). Angka Lempeng Total Mikroba Pada Minuman Teh Di Kota Pontianak. *Jurnal Protobiont*, 8 (2), 69–73. <https://doi.org/10.26418/Protobiont.V8i2.33968>

- Sekarwati, N., & Wulandari, H. (2016). Analisis Kandungan Bakteri Total *Coliform* Dalam Air Bersih Dan *Escherechia coli* Dalam Air Minum Pada Depot Air Minum Isi Ulang Di Wilayah Kerja Puskesmas Kalasan Sleman. *Kes Mas: Jurnal Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Ahmad Daulan*, 10 (2), 1–12.
- Sriwidadi, T. (2011). Penggunaan Uji *Mann Whitney u* Pada Analisis Pengaruh Pelatihan Wiraniaga Dalam Penjualan Produk Baru. *Binus Business Review*, 2 (2), 751–762.
- Styawan, A. A., & Al’Azzah, Z. H. (2018). Pemeriksaan Bakteriologi Es Batu Balok Di Kota Klaten. *J. Ilmu Farmasi*, 9 (2), 49–55.
- Sunarti, R. N. (2015). Uji Kualitas Air Sumur Dengan Menggunakan Metode MPN (*Most Probable Number*). *Biolimi: Jurnal Pendidikan*, 1 (1), 30–34.
- Suriaman, E., & Apriliasari, W. P. (2017). Uji Mpn *Coliform* Dan Identifikasi Fungi Patogen Pada Air Kolam Renang Di Kota Malang. *Jurnal Sainhealth*, 1 (1), 15. <https://doi.org/10.51804/jsh.v1i1.73.15-22>
- Tarina, N., & Kusuma, S. (2021). Deteksi Bakteri *Klebsiella pneumonia*. *Farmaka*, 15 (1), 53–59.
- Utami, F. T., & Miranti, M. (2020). Metode *Most Probable Number* (MPN) Sebagai Dasar Uji Kualitas Air Sungai Rengganis Dan Pantai Timur Pangandaran Dari Cemaran *Coliform* Dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada : Jurnal Ilmu Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 20 (1), 21–30. https://ejournal.stikes-bth.ac.id/index.php/p3m_jkbth/article/download/550/482
- World Health Organization (WHO). (2017). *Diarrhoeal Disease*. <https://www.who.int/en/news-room/factsheets/detail/diarrhoeal-disease>. Diakses Pada 15 Desember 2022.
- Wulandari, E. (2023). Angka Lempeng Total, Most Probable Number, Dan Identifikasi Bakteri *Coliform* Pada Susu Sapi Segar Di Kabupaten Banyuwangi. *Journal Of Indonesian Medical Laboratory And Science*, 4 (1), 45–58.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi kegiatan



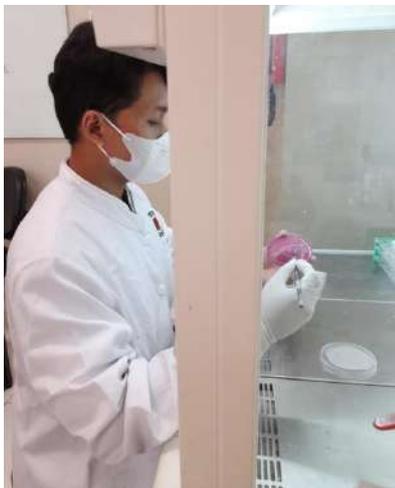
Pembuatan kultur bakteri dengan media BHIB



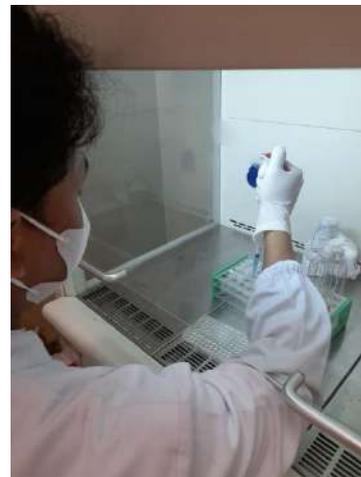
Penghitungan koloni bakteri pada cawan metode ALT



Pembuatan Media



Inokulasi bakteri *Klebsiella pneumoniae*



Pengujian bakteri *coliform* metode mMPN

Lampiran 2. Jadwal penelitian

No .	Rencana Kegiatan	Bulan							
		Nov	Des	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Juni
1.	Pengajuan Judul KTI								
2.	Pembuatan Proposal KTI								
3.	Seminar Proposal								
4.	Pengujian terhadap sampel								
5.	Pengolahan Data								
6.	Penyusunan KTI								
7.	Sidang KTI								

Lampiran 3. Log bimbingan KTI



MP-AKDK-24/F1
No. Revisi 0.0

LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR PRODI DIII TLM

Nama Mahasiswa : Dwi Nurcahyo
Judul : Pengaruh Penyimpanan Media Terhadap Pertumbuhan
Coliform Dengan Metode *Miniaturized Most Probable
Number*

Dosen Pembimbing : Noor Andryan Ilsan, PhD

No.	Hari/ Tanggal	Topik	Masukan	Paraf	
				Mahasiswa	Pembimbing
1.	16-09-2022	Rencana Judul Penelitian	Mempelajari metode mmpn	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
2.	23-09-2022	Pemantapan Judul penelitian	Menggunakan Perbaikan sebagai pembeda	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
3.	21-10-2022	Bab 1: Latar belakang	Mengembangkan keseluruhan isi KTI	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
4.	01-11-2022	Bab 2: Tujuan publikasi Bab 3: Metode + sampel	Tujuan Rangka harus rinci, metode mmpn	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
5.	27-12-2022	Pemantapan Metode Penelitian	Memasukkan gambar Rada PPT	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
6.	03-01-2023	Preposal penelitian	PPT yang dibuat harus jelas	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
7.	15-02-2023	Metode Perbandingan mmpn	menganti mmpn dgn AT sebagai perbandingan jumlah bakteri	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
8.	20-02-2023	Metode Perbandingan mmpn	Mengurangi efek-nya yang menyebabkan kematian	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
9.	03-03-2023	Metode Perbandingan mmpn	Mengolah data yang ada dengan SPSS	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
10.	12-06-2023	Hasil dan Pembahasan	menggunakan stok, memberi penjelasan pada pembat hasil	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
11.	14-06-2023	Bab 1 - Daftar Pustaka	Tambahkan peneliti sebelumnya Pembahasan mengenai hasil yg didapat	<i>Ans</i>	<i>PS</i>
12.	15-06-2023	Abstrak	Meminta PPT dgn ringkas	<i>Ans</i>	<i>PS</i>