



**PENGARUH SANITASI TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI COLIFORM DENGAN MENGGUNAKAN METODE
*MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER (m-MPN)***

KARYA TULIS ILMIAH

**DISUSUN OLEH :
MUSTIKA SITI RAHAYU
202003010**

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



**PENGARUH SANITASI TERHADAP PERTUMBUHAN
BAKTERI COLIFORM DENGAN MENGGUNAKAN METODE
*MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER (m-MPN)***

KARYA TULIS ILMIAH

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

MUSTIKA SITI RAHAYU

202003010

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

BEKASI

2023

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini, saya yang bernama:

Nama : Mustika Siti rahayu

NIM : 202003010

Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah dengan judul “Pengaruh Sanitasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri coliform Dengan Menggunakan Metode *Miniaturized Most Probable Number* (m-MPN)” adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupu dirujuk telah saya nyatakan dengan benar dan bebas dari plagiat.

Dengan surat pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Bekasi, 14 juni 2023



(Mustika Siti Rahayu)

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi / Karya Tulis Ilmiah yang disusun oleh:

Nama : Mustika Siti Rahayu

NIM : 202003010

Program Studi : DIII Teknologi Laboratorium Medis

Judul : Pengaruh Sanitasi Terhadap Pertumbuhan Bakteri coliform
Dengan Menggunakan Metode *Miniaturized Most Probable
Number* (m-MPN)

Telah diujikan dan dinyatakan lulus dalam sidang KTI di hadapan Tim
Penguji pada tanggal 26 Juni 2023.

Ketua Penguji

(Maulin Inggraini, M.Si)

NIDN.0303108901

Anggota Penguji 1

(Noor Andryan Ilsan, Ph.D)

NIDN. 0308059101

Mengetahui,

Koordinator Program Studi DIII Teknologi Laboratorium Medis

(Siti Nurfaiziah, S.Pd., M.Si.)

NIDN. 0324128503

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT karena atas berkat dan rahmatnya penulisan Proposal Karya Ilmiah dengan judul **“PENGARUH SANITASI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI COLIFORM DENGAN MENGGUNAKAN METODE *MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER* (m-MPN)”** dapat terlaksanakan dengan baik. dengan terselesaikan proposan KTI ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Ibu Dr. Susi Hartati, S.Kep., M.Kep., Sp.Kep.Anak, selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga.
2. Ibu Siti Nurfajriah, S.Pd., M.Si, selaku Koordinator Program Studi Diploma III Teknologi Laboratorium Medis Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga.
3. Bapak Noor Andryan Ilsan, Ph.D, selaku dosen pembimbing KTI yang telah memberikan saran dan masukan yang baik sehingga Proposal Karya Tulis Ilmiah ini bisa terselesaikan dengan lancar.
4. Ibu Maulin Inggaini, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan masukan dan arahan selama ujian KTI.
5. Ayah dan ibu serta keluarga besar yang senantiasa memberikan bimbingan dan doa dalam menyelesaikan proposal KTI ini.
6. Teman-teman Angkatan 2020 dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya proposal KTI ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.
7. Pihak-pihak yang terkait dengan penelitian, yang bersedia dan telah mengizinkan saya melakukan penelitian untuk KTI ini.

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

Bekasi, 05 Januari 2023



Mustika Siti Rahayu

PENGARUH SANITASI TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI COLIFORM DENGAN MENGGUNAKAN METODE *MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER* (m-MPN)

Mustika Siti Rahayu

202003010

Abstrak

Pendahuluan: Bakteri coliform merupakan bakteri yang digunakan sebagai tanda adanya kontaminasi dan kondisi yang buruk terhadap makanan dan minuman. Kehadiran bakteri coliform dalam makanan atau minuman menunjukkan adanya kemungkinan mikroba yang berbahaya bagi kesehatan tubuh. Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh perbandingan sanitasi terhadap pertumbuhan bakteri coliform dengan menggunakan metode *miniaturized Most Probable Number* (m-MPN). **Metode:** Sampel yang digunakan merupakan isolat bakteri *Klebsiella pneumonia* dari pus yang diambil dari Rumah Sakit swasta daerah Bekasi Timur. Variabel bebas menggunakan pengaruh sanitasi di dalam dan di luar BSC terhadap pertumbuhan bakteri dan variabel terikat adalah jumlah bakteri coliform. Prosedur penelitian ini meliputi tahap pembuatan media, pembuatan suspensi bakteri *Klebsiella pneumonia*, uji perbandingan metode ALT dan m-MPN, pengujian m-MPN dengan pengaruh sanitasi di dalam dan di luar BSC dan uji konfirmasi dengan media Endo Agar. **Hasil:** Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 10^2 didapatkan hasil rata-rata (metode ALT 81 CFU/ml, metode m-MPN 1100 CFU/ml) dan konsentrasi 10^2 didapatkan hasil rata-rata di dalam BSC 283 CFU/ml, di luar BSC 496 CFU/ml). **Kesimpulan:** Didapatkan hasil uji Non-parametrik dengan uji *Mann-whitney u* yaitu $\text{sig } \alpha > 0,05$ H_0 diterima yang artinya tidak terdapat perbedaan rata-rata secara nyata peningkatan jumlah koloni bakteri yang diperoleh pada metode m-MPN dengan metode ALT dan pengaruh sanitasi di dalam dan di luar BSC terhadap pertumbuhan bakteri.

Kata Kunci : Bakteri coliform, *Most Probable Number* (MPN), Sanitasi

THE INFLUENCE SANITATION ON THE GROWTH OF COLIFORM BACTERIA USING THE *MINIATURIZED MOST PROBABLE NUMBER* (m-MPN) METHOD

Mustika Siti Rahayu

202003010

ABSTRACT

Coliform bacteria are bacteria used as a sign of contamination and poor conditions for food and beverages. The presence of coliform bacteria in food or drink indicates the possibility of pathogenic microbes that are harmful to the health of the body. This study aims to determine the effect of the comparison of inoculation site sterilization on the growth of coliform bacteria using the miniaturized Most Probable Number (m-MPN) method. This research was conducted in February - June 2023 in the Mitra Keluarga STIKes laboratory. The sample used is an isolate of the *Klebsiella pneumoniae* bacteria from pus taken from a private hospital in East Bekasi. The independent variable uses the effect of sanitation inside the BSC and outside the BSC on the growth of bacteria and the dependent variable is the number of coliform bacteria. The research procedure included the stages of making the media, making the *Klebsiella pneumoniae* bacterial suspension, testing the comparison of the ALT and m-MPN methods, testing the m-MPN with the effect of sanitation inside the BSC and outside the BSC and the confirmation test with Endo Agar media. The results showed that a concentration of 10^2 obtained an average result (ALT method 81 CFU/ml, m-MPN method 1100 CFU/ml) and a concentration of 10^3 obtained an average result in BSC 283 CFU/ml, outside BSC 496 CFU/ml). Non-parametric test results obtained with the Mann-Whitney u test, namely $\text{sig } \alpha > 0.05$, then H_0 is accepted, which means that there is no significant difference in the average increase in the number of bacterial colonies obtained in the m-MPN method with the ALT method and the effect of sanitation in inside and outside the BSC on bacterial growth.

Keywords: Coliform bacteria, Most Probable Number (MPN), Sanitation

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II.....	6
A. Diare	6
B. Bakteri coliform	6
C. Angka Lempeng Total (ALT)	7
E. Most Probable Number (MPN)	8
F. Kerangka Teori.....	10
BAB III	12
A. Kerangka Konsep	12
B. Hipotesis Penelitian	13
BAB IV.....	14
A. Desain Penelitian	14
B. Variabel Penelitian	14
C. Definisi Operasional.....	14
D. Populasi dan Sampel	15
E. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	15
F. Alat dan Bahan.....	15
G. Prosedur Kerja	15
H. Alur Penelitian.....	20
I. Pengolahan dan Analisa Data.....	21
BAB V	22
BAB VI.....	30
BAB VII	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Gambar 2.1 Tabel MPN 10ml, 1ml dan 0,1ml	10
Gambar 5.1 Bakteri <i>Klebsiella pneumonia</i> strain kp 75 pada media endo agar.....	22
Gambar 5. 2 Uji ALT pada media TSA.....	23
Gambar 5. 3 Uji metode m-MPN dengan konsentrasi 10^3 pada 3x pengulangan.	24
Gambar 5. 4 uji m-MPN di dalam BSC dengan konsentrasi 10^2 dan 10^1	25
Gambar 5. 5 Uji m-MPN di luar BSC dengan konsnetrasi 10^2 dan 10^1	26
Gambar 5. 6 Grafik jumlah bakteri coliform metode m-MPN pengaruh sanitasi.	27
Gambar 5. 7 Media Endo yang ditumbuhi bakteri <i>Klebsiella pneumonia</i>	29

DAFTAR TABEL

Tabel 5. 1 Jumlah koloni bakteri coliform pada metode ALT.	23
Tabel 5. 2 Jumlah bakteri coliform pada metode m-MPN.....	24
Tabel 5. 3 Jumlah bakteri coliform pada metode m-MPN di dalam BSC	26
Tabel 5. 4 Jumlah bakteri coliform pada metode m-MPN di luar BSC.....	27
Tabel 5. 5 Uji <i>Mann Whitney u</i> perbedaan pengaruh sanitasi	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Formulir usulan judul/ topik penelitian.	37
Lampiran 2 Persetujuan judul KTI oleh pembimbingan	38
Lampiran 3 Lembar konsultasi KTI	39
Lampiran 4 Jadwal penelitian	40
Lampiran 5 Dokumentasi kegiatan	41

ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

ALT : Angka Lempeng Total

MPN : *Most Probable Number*

BSC : *Biological Safety Cabinet*

m-MPN: *miniaturized Most Probable Number*

BHIB : *Brain Heart Infusion Broth*

LBDS : *Lactose Broth Double Strength*

LBSS : *Lactose Broth Single Strength*

TSA : *Tryptic Soy Agar*

LB : *Lactose Broth*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri coliform merupakan bakteri penanda adanya kontaminasi dan kondisi yang buruk terhadap makanan dan minuman sehingga berbahaya bagi kesehatan tubuh. Menurut Yulinar dan Fitriangga (2022), bakteri coliform yang dimaksud adalah bakteri coliform fekal yang dijadikan sebagai indikator keberadaan terjadinya pencemaran air, karena semakin sedikit kandungan coliform maka kualitas air semakin bagus untuk dikonsumsi. Kontaminasi oleh bakteri coliform di dalam makanan dan minuman dalam jumlah yang tinggi tidak selalu menimbulkan bau, warna ataupun rasa. Toksin yang dihasilkan bakteri coliform mempunyai efek terhadap saluran pencernaan dan dapat menyebabkan penyakit diare.

Diare adalah suatu gangguan pencernaan yang dimana feses atau tinja memiliki tekstur cair dan intensitas Buang Air Besar (BAB) sebanyak 3 sampai 7 kali dalam sehari. Diare memiliki gejala yang umum seperti sakit perut, mulas berkepanjangan, dehidrasi dan disertai mual dan muntah. Diare sering terjadi karena mengkonsumsi makanan yang telah terkontaminasi oleh bakteri, virus atau parasit yang biasanya saat pembuatan makanan atau minuman tidak memperhatikan kebersihan. Penyakit diare sering dijumpai pada masyarakat dari kalangan anak-anak hingga kalangan remaja (Tuang, 2021).

Menurut WHO (2017) prevalensi penyakit diare secara global, didapatkan 1,7 miliar kasus penyakit diare dan 525.000 kasus kematian akibat diare setiap tahunnya. Berdasarkan hasil Riskesdas tahun 2018 menunjukkan prevalensi penyakit diare di Indonesia mencapai 6,8% atau sebanyak 1.017.290 orang. Berdasarkan Kementerian Kesehatan Republik

Indonesia (2019) beberapa provinsi di Indonesia masih memiliki presentase yang cukup tinggi, salah satunya Jawa Barat yang berada di urutan ke 12 dengan prevalensi penyakit diare mencapai 7,4% atau sebanyak 186.809 orang. Sementara itu prevalensi diare di Kabupaten Bekasi pada tahun 2018 mencapai 8,11% atau sebanyak 5.434 orang (Riskesdas, 2018).

Metode Angka Lempeng Total (ALT) dan *Most Probable Number* (MPN) merupakan salah satu pemeriksaan yang dilakukan untuk mendeteksi adanya bakteri. Angka Lempeng Total (ALT) merupakan salah satu metode kuantitatif untuk mengetahui jumlah cemaran mikroba pada suatu sampel. Metode ALT dapat digunakan dengan cara tuang, tetes dan sebar. Nilai batas maksimum pada metode ALT yang sudah ditetapkan oleh BPOM (2016) yaitu 10^2 CFU/ml. *Most Probable Number* (MPN) merupakan salah satu pemeriksaan yang dilakukan untuk menghitung total bakteri coliform yang berada di dalam suatu air yang dicurigai sudah terkontaminasi oleh mikroorganisme seperti bakteri coliform. Prinsip dari metode MPN ini yaitu mengencerkan sampel dengan pengenceran bertingkat tertentu sehingga mendapatkan konsentrasi bakteri yang sesuai dan di tanam dalam tabung reaksi yang berisikan media cair dan tabung durham. Jika hasil dalam tabung positif maka terjadi pembentukan gas didalam tabung durham dan menandakan adanya pertumbuhan bakteri coliform pada sampel air tersebut. Metode MPN terbagi menjadi 3 tahapan, yaitu uji penduga (*Persumptive test*), uji konfirmasi (*Confirmed test*) dan uji pelengkap (*Completed test*) (Pasaribu dkk., 2019).

Setiap pemeriksaan pasti memiliki kekurangan dan kelebihan masing-masing. Menurut Sundari dan Fadhlani (2019) kelebihan ada uji metode ALT, memiliki kelebihan yaitu dapat mengetahui jumlah mikroba yang paling banyak dan mengetahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat

dalam sampel, sedangkan kekurangannya yaitu dapat terjadi pertumbuhan 2 jenis koloni atau lebih dan mudah terkontaminasi sehingga menghalangi bakteri yang akan ditumbuhkan. Menurut (Kumalasari dan Prihandiwati, 2018) kelebihan pada uji metode MPN kelebihan yaitu sederhana dan dapat dibuat sangat sensitif dengan penggunaan contoh yang lebih besar dari 1 ml/ tabung, sedangkan kekurangan pada uji media MPN yaitu jumlah bakteri yang dihitung hanya dalam jumlah kasar, membutuhkan banyak alat dan bahan yang digunakan, selain itu juga membutuhkan sistem penampungan sampel tertentu supaya meminimalisir perubahan bakteri pada sampel sehingga tidak dapat dilakukan di lapangan tempat pengambilan sampel.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh colla et al didapatkan 1.071 sampel daging ayam dari 7 tempat pemotongan ayam dan 17 titik pengambilan sampel, dinilai dengan *miniaturized Most Probable Number* (mMPN) dan mikrobiologi konvensional. Sembilan dari 1.071 (0,83%) sampel yang dievaluasi dengan mMPN atau mikrobiologi konvensional positif untuk *Salmonella* di tujuh dari 17 titik sampel (Colla et al., 2016). Penelitian yang dilakukan oleh Precha et al (2022) tentang Kualitas Bakteriologis pada air minum, dengan menggunakan metode MPN dan sampel air minum sebanyak 53 sampel dari dispenser pendingin yang berada di 13 asrama Walailak University. Sebanyak 10 dari 53 sampel air minum terdeteksi tercemar bakteri coliform dan juga 3 dari 10 sampel tersebut terdeteksi *Escherichia coli*.

Sterilisasi merupakan proses pembunuhan atau menghilangkan mikroorganisme dan spora yang hidup pada sediaan untuk menciptakan keadaan yang steril (Tungadi, 2017). Proyek penelitian ini merupakan payung penelitian dalam pengembangan kit portable *miniature Most Probable Number* (m-MPN). Diharapkan kit ini dapat digunakan oleh siapapun dan dimanapun. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui

faktor kebersihan atau sterilisasi terhadap hasil pada kit portable *miniature Most Probable Number* (m-MPN). Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan apakah kit m-MPN ini dapat digunakan di luar BSC (*Biological Safety Cabinet*) atau hanya dapat digunakan di dalam BSC (*Biological Safety Cabinet*)

Berdasarkan penelitian sebelumnya, di Indonesia belum ada penelitian mengenai pemeriksaan MPN menggunakan metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN) peneliti tertarik untuk meneliti tentang pertumbuhan bakteri coliform menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN). Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai acuan mengenai pertumbuhan bakteri coliform di dalam dan di luar BSC menggunakan metode m-MPN.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka didapatkan rumusan masalah yaitu apakah terdapat pengaruh sanitasi tempat inokulasi terhadap pertumbuhan bakteri coliform menggunakan metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN).

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Mengetahui pengaruh perbandingan sanitasi tempat inokulasi terhadap pertumbuhan bakteri coliform dengan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN).

2. Tujuan Khusus

Mengetahui jumlah bakteri saat melakukan inokulasi di dalam dan di luar *Biological safety cabinet* (BSC) pada metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN).

D. Manfaat Penelitian

1. Masyarakat

Hasil penelitian dapat memberikan informasi mengenai produk pemeriksaan air minum dengan metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN) yang dapat dilakukan secara mandiri oleh masyarakat.

2. Instansi

- a. Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai acuan dalam mengembangkan kit m-MPN.
- b. Sebagai bahan referensi dan pembelajaran bagi masyarakat.

3. Peneliti

Menambah pengetahuan dan pengalaman peneliti dibidang bakteriologi dan terampil dalam melakukan uji eksperimen pengaruh sterilitas tempat dengan menggunakan metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Diare

Diare menjadi salah satu penyakit yang menjadi masalah utama di negara berkembang, salah satunya Indonesia. Faktor utama terjadinya penyakit diare karena adanya faktor lingkungan dan perilaku masyarakat yang kurang memperhatikan kebersihan. Diare adalah buang air besar yang memiliki tekstur feses yang lebih lembek, cair dengan frekuensi kurang lebih 3 kali dalam kurun waktu 24 jam. Jika konsistensi lembek tetapi tidak sering berarti bukanlah penyakit diare. Diare biasanya juga dibarengi dengan demam, nafsu makan turun, kram perut dan bisa berakibat penurunan berat badan. Diare juga dapat menyebabkan penderitanya dehidrasi yang dapat menyebabkan kehilangan cairan tubuh yang berlebihan. Bakteri yang biasa disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*, *Shigella*, *Rotavirus*, *Entamoeba histolytica*. Faktor yang dapat mempengaruhi diare selain dari perilaku masyarakat juga gizi, sosial ekonomi, gizi dan lingkungan (Hutasoid, 2020)

B. Bakteri coliform

Bakteri coliform adalah salah satu bakteri patogen yang seharusnya tidak terdapat di dalam air, adanya bakteri coliform di dalam air menunjukkan bahwa air tersebut tercemari oleh bakteri patogen. Bakteri coliform biasanya terdapat di dalam sistem pencernaan manusia dan hewan. Bakteri coliform juga bisa menjadi indikator air minum tercemar bakteri patogen. Bakteri ini biasanya berbentuk basil (batang) gram negatif, tidak mempunyai spora, dan juga mampu memfermentasi sehingga mampu memproduksi asam dan gas. Terdapat 2 jenis bakteri *coliform* yaitu fecal dan non-fecal (Kurahman dkk., 2022).

1. Bakteri coliform Fecal

Bakteri coliform Fecal adalah bakteri yang berbentuk basil (batang) gram negatif yang bersifat anaerob juga anaerob fakutatif, tidak

memiliki spora dan menjadi bakteri flora normal yang berada di dalam saluran pencernaan manusia. Minuman atau makanan yang sudah terkena bakteri coliform jika dikonsumsi akan menimbulkan penyakit seperti diare, tipus, disentri basiler dan juga kolera. Kelompok bakteri coliform fekal antara lain, *Escherichia coli*, *Salmonella typhosa*, *Shigella dysenteriae* dan *Vibrio cholerae* (Nisa dkk., 2012).

2. Bakteri coliform Non-Fekal

Bakteri coliform Non-Fekal merupakan bakteri yang dapat ditemukan pada hewan dan tumbuh-tumbuhan yang sudah mati atau membusuk. Salah satu contoh bakteri coliform Non-Fekal adalah *Enterobacter aerogenes*. Pada media MCA (*MacConkey Agar*) bakteri coliform Non-Fekal tidak berwarna merah bata, sedangkan bakteri coliform Fekal memiliki warna koloni merah bata (Nurmalika dkk., 2021).

Bakteri *Klebsiella pneumonia* merupakan bakteri yang masuk kedalam famili *Enterobacteriaceae* yang dapat menyebabkan terjadinya penyakit pneumonia. Bakteri *Klebsiella pneumonia* memiliki bentuk batang pendek, bakteri gram negatif (-), memiliki kapsul, dan termasuk kedalam bakteri fakultatif anaerob. Bakteri ini tidak memiliki flagel yang menyebabkan bakteri tidak bisa bergerak, namun bakteri *Klebsiella* mampu memfermentasi karbohidrat menjadi bentuk asam dan gas. *Klebsiella pneumonia* juga mampu memfermentasi laktosa dan pertumbuhan bakteri *Klebsiella pneumonia* pada media ditandai dengan koloni mucoid (berlendir) (Bolla dkk., 2021).

C. Angka Lempeng Total (ALT)

Angka Lempeng Total merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada suatu media dari sampel yang telah dilakukan pengenceran. Pengenceran yang dilakukan pada sampel bertujuan untuk mengurangi jumlah populasi

bakteri, jika tidak dilakukan pengenceran maka koloni bakteri yang tumbuh akan menumpuk sehingga akan menyulitkan dalam proses perhitungan jumlah koloni yang tumbuh. Jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media dihitung setelah dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan jumlah koloni bakteri yang dihitung sebanyak 30 - 300 koloni (Mursalim, 2018).

E. Most Probable Number (MPN)

Most Probable Number (MPN) merupakan suatu pemeriksaan untuk mendeteksi bakteri coliform menggunakan sampel air dan makanan yang menggunakan data dari hasil pemeriksaan bakteri pada media cair *Lactose Broth* (LB) dan *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) yang dilakukan pengenceran bertingkat seri tabung. hasil MPN positif jika tabung Durham terdapat gas di dalamnya. MPN digunakan karena memiliki sensitifitas yang tinggi dan mampu mendeteksi bakteri coliform dengan mudah dan dalam jumlah yang sedikit sekalipun (Kurniawan dkk., 2021).

Terdapat 3 tahap untuk memastikan apakah air tersebut aman atau tidak dari kontaminasi coliform, dilakukan metode paling umum diterapkan tes 3 tahap berkelanjutan seperti tes penduga, tes konfirmasi, dan tes penguat. Untuk perhitungan bakteri coliform juga digunakan metode MPN dengan menyiapkan 3 set tabung reaksi yang berisi media. Semua tabung reaksi dimasukkan dengan tabung Durham untuk mendeteksi pembentukan gas oleh bakteri fekal coliform dan kemudian diinkubasi selama 48 jam. Setelah inkubasi, pembentukan gas dalam tabung Durham diamati hati-hati dan tabung positif gas dihitung. Jumlah bakteri coliform kemudian diperoleh dengan mencocokkan tabung positif dalam pengenceran yang berbeda dengan bagan standar MPN (Precha et al, 2022).

Test penduga (*Persumptive Test*) adalah test yang dilakukan untuk mengetahui adanya bakteri yang memfermentasi laktosa dan menghasilkan

gas juga perubahan warna pada media. Test penduga ini dilakukan selama 24 – 48 jam dalam suhu 37°C setelah dilakukan inokulasi bakteri ke dalam tabung yang berisi media dan tabung Durham. Test penduga dinyatakan positif apabila terdapat gas dalam tabung Durham (Krismamurti, 2017). Media yang digunakan pada uji penduga ini adalah media *Lactose broth* (LB). Media LB digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri *coliform* pada sampel. Media LB mengandung laktosa sebagai sumber karbohidrat yang akan difermentasi oleh bakteri *coliform* (Agustin dkk, 2019).

Test konfirmasi merupakan test yang dilakukan setelah test penduga yang berfungsi sebagai pembeda antara bakteri *coliform* fecal dan non-fecal. Test ini menggunakan media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLBB) yang merupakan media selektif untuk mengkonfirmasi adanya bakteri *coliform* pada sampel. *Oxgall* (empedu) dan *brilliant green* yang terkandung di dalam media berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Hasil fermentasi laktosa pada media yang dilakukan oleh bakteri *coliform* akan menimbulkan gas karbondioksida yang terdapat di dalam tabung Durham (Krismamurti, 2017).

Uji pelengkap adalah pengujian yang dilakukan setelah dilakukan uji konfirmasi untuk memastikan bahwa bakteri yang tumbuh adalah jenis *coliform* yang ingin diketahui dengan menggunakan *Eosin Methylene Blue* (EMB) agar dan menggunakan sampel yang telah direaksi pada media BGLBB dengan hasil positif pada suhu 44,5°C. Media EMB adalah media selektif diferensial yang digunakan untuk mendeteksi dan mengisolasi bakteri *coliform*. Media EMB memiliki pH asam yang dapat menyebabkan eosin dan metilen blue bercampur dan mengendap. Bakteri yang dapat memfermentasi laktosa akan menghasilkan warna gelap, sedangkan bakteri yang tidak memfermentasi laktosa tidak akan menghasilkan warna. Bakteri yang dapat memfermentasi sukrosa seperti *Enterobacter* berwarna merah muda, *E. coli* menghasilkan warna hijau metalik, dan *Klebsiella sp*

menghasilkan warna merah atau merah muda (Krisnamurti, 2017). Gambar di bawah merupakan tabel MPN untuk tabung 3 seri yang digunakan sebagai interpretasi hasil pada uji MPN.

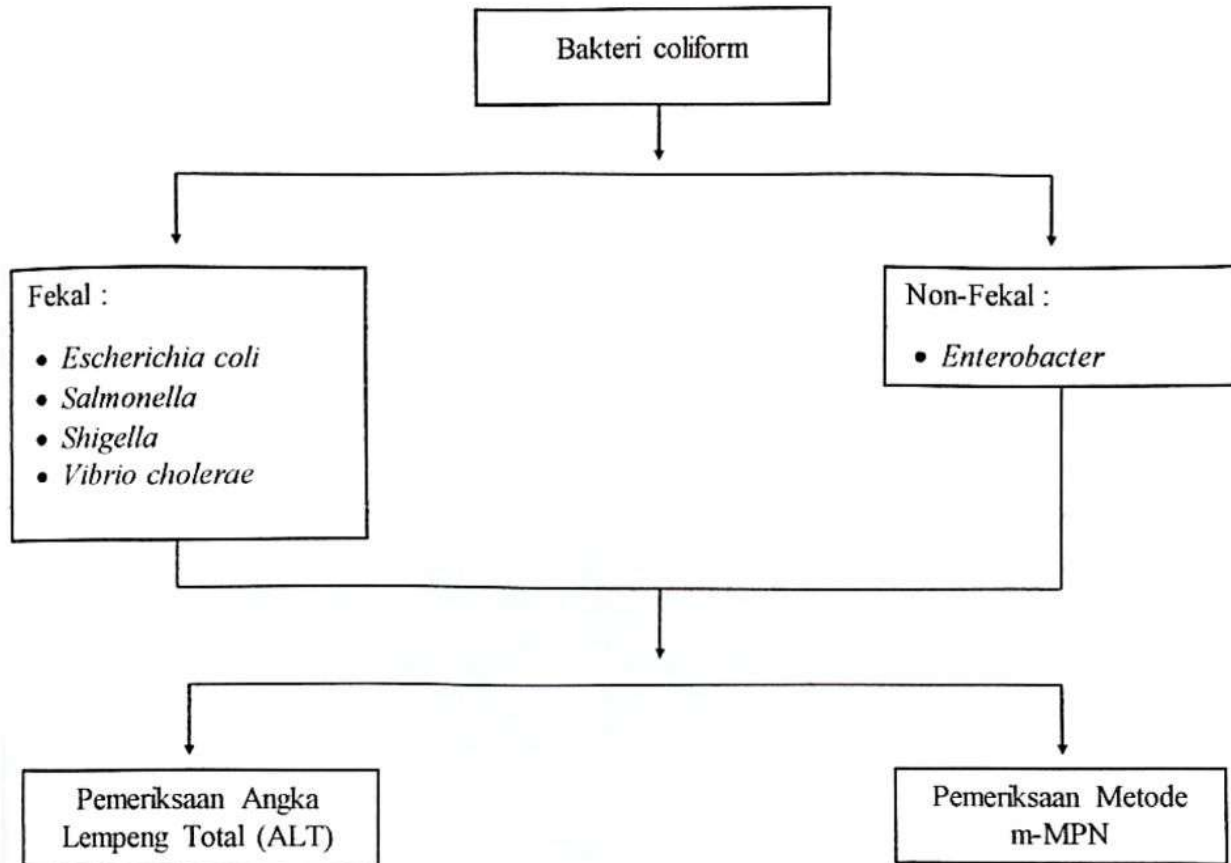
Tabel MPN untuk 3 seri tabung dengan 0,1, 0,01 dan 0,001 g inokulum (95 % confidence intervals)												
Tabung positif			MPN/g	Coef. lim.		Tabung positif			MPN/g	Coef. lim.		
0 10	0 01	0 001		bwab	atas	0 10	0 01	0 001		bwab	atas	
0	0	0	<3.0	—	9.5	2	2	0	21	4.5	42	
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94	
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	—	

Gambar 2.1 Tabel MPN 10ml, 1ml dan 0,1ml (Hapsari.dkk, 2021)

F. Kerangka Teori

Penelitian ini memiliki kerangka teori seperti kerangka di bawah ini, dimana bakteri coliform terbagi menjadi 2 jenis yaitu bakteri fekal dan non fekal. Bakteri coliform fekal merupakan bakteri flora normal yang berada di dalam saluran pencernaan manusia contohnya seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, dan *Vibrio cholerae*. Bakteri coliform Non-Fekal merupakan bakteri yang ditemukan pada hewan dan tumbuh-tumbuhan yang sudah mati atau membusuk contoh dari bakteri non fekal yaitu *Enterobacter*. Pemeriksaan yang dilakukan untuk menguji bakteri fekal

dan non-fekal dilakukan pemeriksaan Angka Lempeng Total (ALT) dan *miniature Most Probable Number* (m-MPN).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

A. Kerangka Konsep

Penelitian ini memiliki kerangka konsep seperti kerangka di bawah ini, dimana sampel bakteri coliform akan dilakukan 2 metode pengerjaan yaitu metode m-MPN dengan hasil yang dibaca yaitu melihat adanya kekeruhan pada tabung microplate dan metode ALT dengan hasil yang dibaca menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh. Setelah dilakukan 2 pengujian dilakukan uji perbandingan dimana pengerjaannya di dalam BSC dan di luar BSC. Hasil yang diperoleh akan dilakukan analisis data.



B. Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini yaitu :

- Ha : Terdapat perbedaan rata-rata pengaruh sanitasi terhadap pertumbuhan bakteri coliform dengan menggunakan metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN).
- Ho : Tidak terdapat perbedaan rata-rata pengaruh sanitasi terhadap pertumbuhan bakteri coliform dengan menggunakan metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN).

BAB IV METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian ini adalah eksperimen, karena peneliti ingin mengetahui pengaruh sanitasi terhadap pertumbuhan bakteri coliform dengan metode m-MPN. Penelitian ini melakukan pengaruh pengerjaan di dalam BSC dan di luar BSC.

B. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan pada penelitian ini yaitu, variabel bebas adalah pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dan variabel terikat adalah bakteri coliform.

C. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi operasional	Alat ukur	Cara ukur	Hasil ukur	Skala ukur
1.	Perlakuan sanitasi	Sanitasi dilakukan untuk mengetahui pengaruh pertumbuhan bakteri coliform	Cawan petri berisi media	Visual mata	Pertumbuhan koloni bakteri pada media	Interval
2.	Bakteri coliform	Bakteri yang digunakan sebagai indikator cemaran bakteri pada air minum	Mikroplate	<i>miniature Most Probable Number (m-MPN)</i>	Jumlah bakteri dalam CFU/mL	Rasio

D. Populasi dan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel bakteri *Klebsiella pneumonia* dengan kode sampel kp 75 yang berasal dari laboratorium STIKes Mitra Keluarga.

E. Lokasi dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian : Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari sampai dengan bulan Juni 2023.

Lokasi penelitian : penelitian ini dilaksanakan pada laboratorium 305 STIKes Mitra Keluarga

F. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah korek api, *ohse*, microplate, *Biological Safety Cabinet* (BSC), inkubator, *Colony counter*, *Hot plate*, Bunsen, neraca analitik, *yellow tip*, *blue tip*, *white tip*, botol spray alkohol, *handscoon*, lebel kertas, *beaker glass*, *drugalsky*, Erlenmeyer, spektrofotometer, *autoclave*, cawan petri, *microtube*, sumbat, mikropipet, rotator dan kuvet

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media *Lactose Broth*, Endo Agar, *Tryptic Soy Agar*, NaCl 0,9%, *Aquadest*, spirtus, dan alkohol 70%

G. Prosedur Kerja

1. Pembuatan Media *Lactose Broth Single Strength* (LBSS)

- a) Media *Lactose Broth* ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 13 gram dan dimasukkan kedalam erlenmeyer.
- b) Tambahkan sebanyak 1 liter *aquadest* kedalam erlemeyer.

- c) Letakkan erlemeyer pada hot plat, kemudian media dipanaskan dan di homogen hingga larut dengan sempurna.
- d) Masukkan sterilkan media kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 – 20 menit.
- e) Inkubasikan media pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan media tidak terkontaminasi (Kamaliah., 2017).

2. Pembuatan Media *Lactose Broth Double Strength* (LBDS)

- a) Media *Lactose Broth* ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 2x dari media LBSS (26 gram) dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer
- b) Tambahkan sebanyak 1 liter aquadest kedalam erlemeyer.
- c) Letakkan erlemeyer pada hot plat, kemudian media di panaskan dan di homogen hingga larut dengan sempurna
- d) Masukkan sterilkan media kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 – 20 menit.
- e) Inkubasikan media pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan media tidak terkontaminasi (Kamaliah., 2017).

3. Pembuatan Media *Brain Heat Infusion Broth* (BHIB)

- a) Media BHIB ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 37 gram dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer.
- b) Tambahkan sebanyak 1 liter aquadest kedalam erlemeyer.
- c) Letakkan erlemeyer pada hot plat, kemudian media dipanaskan dan di homogen hingga larut dengan sempurna
- d) Masukkan sterilkan media kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 – 20 menit.
- e) Inkubasikan media pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan media tidak terkontaminasi.

3 tabung mikropate LBSS dan 1 uL sampel ke dalam 3 tabung mikropate LBSS.

- d) Masing – masing tabung dihomogenkan dengan menggunakan rotator
- e) Inkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah itu dilihat ada tidaknya perubahan warna yang terjadi pada media. Hasil yang terlihat dibandingkan dengan skala MPN.

8. Uji m-MPN dengan perlakuan sanitasi

- a) Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan kemudian dimasukkan kedalam BSC
- b) Masukkan kedalam 3 tabung mikropate media LBDS dan 6 tabung mikropate media LBSS sebanyak 90 uL. Masing masing tabung diurutkan dan diberi label nama.
- c) Tabung mikropate yang telah berisi media dimasukkan sampel dengan mikropipet sebanyak 100 uL dan dimasukkan ke dalam 3 tabung mikropate LBDS, 10 uL sampel ke dalam 3 tabung mikropate LBSS dan 1 uL sampel ke dalam 3 tabung mikropate LBSS.
- d) Masing – masing tabung dihomogenkan dengan menggunakan rotator
- e) Inkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Setelah itu dilihat ada tidaknya perubahan warna yang terjadi pada media. Hasil yang terlihat dibandingkan dengan skala MPN.
- f) Ulangi prosedur yang sama dengan pengerjaan di luar BSC.

9. Uji konfirmasi pada media Endo Agar

- a) Ambil sampel pada lubang mikropate yang positif pada perlakuan sanitasi menggunakan cotton bud steril.

4. Pembuatan Media Endo Agar

- a) Media Endo Agar ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 2,3 gram dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer.
- b) Tambahkan sebanyak 50 ml aquadest kedalam erlemeyer.
- c) Letakkan erlemeyer pada hot plat, kemudian media dipanaskan dan di homogen hingga larut dengan sempurna
- d) Masukan sterilkan media kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 – 20 menit.
- e) Inkubasikan media pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan media tidak terkontaminasi.

5. Pembuatan Media *Tryptic Soy Agar* (TSA)

- a) Media TSA ditimbang dengan neraca analitik sebanyak 16 gram dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer.
- b) Tambahkan sebanyak 400 ml aquadest kedalam erlemeyer.
- c) Letakkan erlemeyer pada hot plat, kemudian media dipanaskan dan di homogen hingga larut dengan sempurna
- d) Masukan sterilkan media kedalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 – 20 menit.
- e) Inkubasikan media pada suhu ruang selama 24 jam untuk membuktikan media tidak terkontaminasi.

6. Pembuatan Suspensi Bakteri *Klebsiella pneumonia*

- a) Cangkul media yang berada di agar miring dengan menggunakan ohse yang sebelumnya sudah dibakar hingga membara.
- b) Kemudian masukan bakteri tadi kedalam tabung reaksi yang sudah berisikan media MHB 5ml dan di homogen
- c) Tabung di rotator selama 1x24 jam
- d) Pindahkan 1 ml media yang sudah di rotator tadi kedalam microtube dan di centrifuge dengan kecepatan 2.500 rpm selama 5 menit pada suhu 37°C .

- e) Buang supernatan dan sisa endapan diencerkan dengan NaCl 0,9% sebanyak 1 ml.
- f) Ukur absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer untuk menentukan OD 1 (10^9 CFU/ml) dengan panjang gelombang 600 nm.
- g) Jika OD 1 sudah ditemukan, encerkan sampel dengan NaCl 0,9% hingga konsentrasi 10^1 CFU/ml (Horváth et al., 2020).

7. Uji coba perbandingan ALT dan m-MPN

a. Metode Angka Lempeng Total (ALT)

- a) Sampel bakteri dimasukan kedalam microtube pengenceran 10^1 dan homogenkan sampel
- b) Ambil 1 ml dari pengenceran pertama menggunakan dipindahkan ke pengenceran 10^2 dengan mikropipet dan dihomogenkan
- c) Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengecekan terakhir.
- d) Pipet 1000 μ l pada pengenceran 10^1 , 100 μ l pada pengenceran 10^1 dan 10^{-1} dan di tanam pada media TSA
- e) Inkubasi tabung di dalam inkubator selama 1 x 24 jam. Setelah itu hitung jumlah koloni yang tumbuh pada media TSA dengan menggunakan coloni counter.

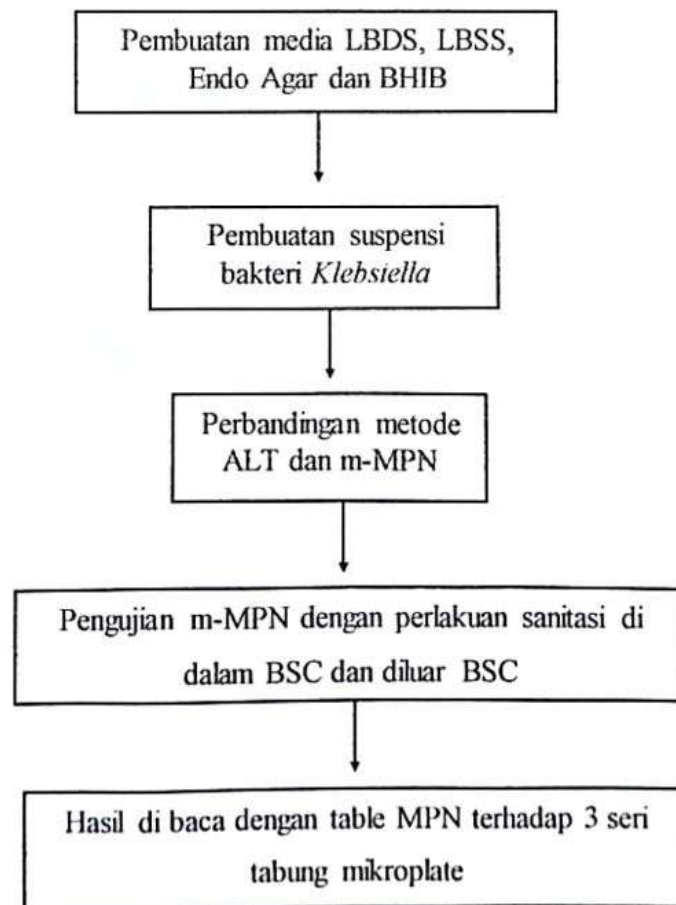
b. Metode *miniature Most Probable Number* (m-MPN)

- a) Siapkan masing masing 9 tabung mikroplate untuk sampel.
- b) Kemudian, masukkan kedalam 3 tabung mikroplate media LBDS dan 6 tabung mikroplate media LBSS sebanyak 90 μ L. Masing masing tabung diurutkan dan diberi label nama.
- c) Tabung mikroplate yang telah berisi media dimasukan sampel dengan mikropipet sebanyak 100 μ L dan dimasukan ke dalam 3 tabung mikroplate LBDS, 10 μ L sampel ke dalam

- b) Inokulasikan sampel pada media Endo Agar dan inkubasi selama 24 pada suhu 37°C
- c) Baca hasil dengan melihat pertumbuhan koloni bakteri yang berwarna hijau metalik. Jika koloni bakteri berwarna hijau metalik menandakan bahwa sampel yang digunakan merupakan bakteri *Klebsiella pneumonia*.

H. Alur Penelitian

Penelitian ini memiliki alur penelitian seperti kerangka di bawah ini, hal yang pertama dilakukan yaitu pembuatan media LBDS, LBSS, Endo Agar dan BHIB. Setelah pembuatan media dilakukan suspensi bakteri *Klebsiella pneumonia* dan suspensi yang telah dibuat dijadikan sampel untuk uji perbandingan ALT dan m-MPN. Jika hasil sudah sesuai dilanjutkan dengan uji perbandingan dimana pengerjaanya di dalam BSC dan di luar BSC. Hasil yang diperoleh akan dibaca menggunakan tabel MPN seri 3 tabung.



I. Pengolahan dan Analisa Data

Pengolahan data pada penelitian ini adalah dengan menggunakan uji statistik *Mann-whitney u*, uji ini digunakan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan dari perlakuan sanitasi tempat inokulasi di dalam BSC dan di luar BSC.

BAB V

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari - Juni 2023 di laboratorium STIKes Mitra Keluarga. Sampel yang digunakan pada penelitian ini menggunakan sampel salah satu bakteri coliform yang berasal dari laboratorium STIKes Mitra Keluarga yaitu *Klebsiella pneumoniae*. Penelitian ini dimulai dari tahap pembuatan isolat bakteri pada media Endo Agar, kultur bakteri menggunakan media BHIB, menentukan OD 1 dengan menggunakan konsentrasi 10^1 dan 10^2 . Kemudian membandingkan metode ALT dan m-MPN, melakukan uji pengaruh sanitasi dengan pengerjaan di dalam BSC dan di luar BSC pada media m-MPN dan melakukan uji konfirmasi menggunakan media Endo Agar.

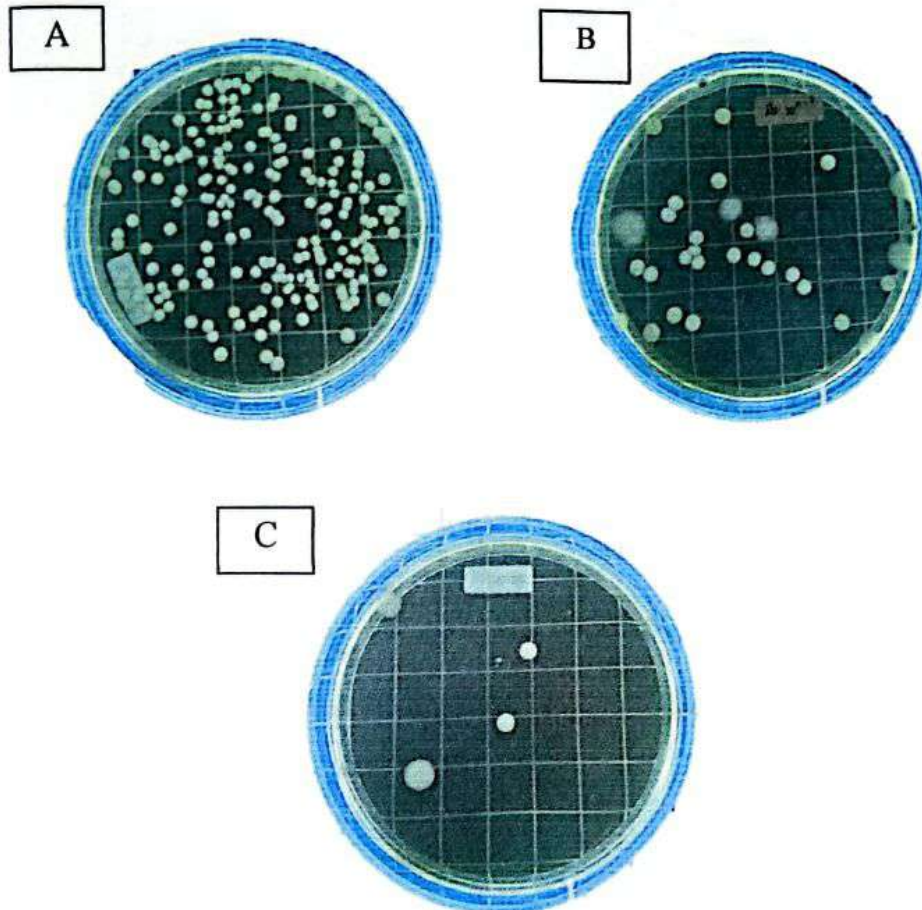
Awal penelitian ini dilakukan penanaman bakteri *Klebsiella pneumonia* yang berasal dari laboratorium STIKes Mitra Keluarga. Media selektif yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Klebsiella pneumonia* adalah media Endo Agar. Hasil menunjukkan bahwa bakteri *Klebsiella pneumonia* yang digunakan berwarna metalik.



Gambar 5. 1 Bakteri *Klebsiella pneumonia* strain kp 75 pada media Endo Agar

Bakteri yang tumbuh pada media Endo Agar di cangkul kemudian dilakukan kultur bakteri menggunakan media BHIB. Setelah 24 jam kemudian sampel dilakukan centrifugasi. Endapan sampel digunakan untuk mengukur nilai OD

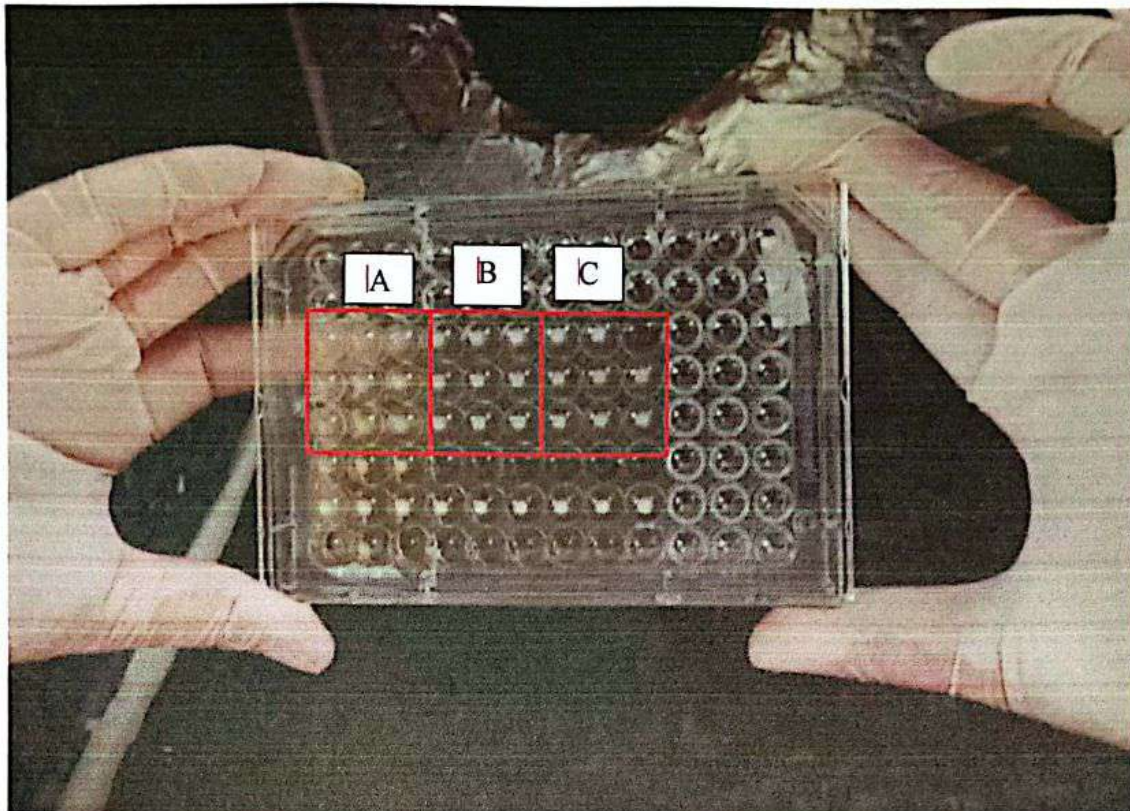
$1(10^9 \text{ CFU/ml})$. setelah didapatkan nilai OD 1, kemudian dilakukan pengenceran hingga dengan 10^4 untuk digunakan sebagai perbandingan metode ALT dan m-MPN.



Gambar 5. 2 Uji ALT pada media TSA; A. konsentrasi 10^3 , konsentrasi. 10^{-1} , C. konsentrasi 10^{-2} .

Tabel 5. 1 Jumlah koloni bakteri coliform pada metode ALT dengan menggunakan konsentrasi suspensi 10^3

Pengenceran	10	100	1000
Pengulangan 1	2090	130	10
Pengulangan 2	2190	220	30
Pengulangan 3	1100	220	20
Rata - rata : 2.003 CFU/ml			



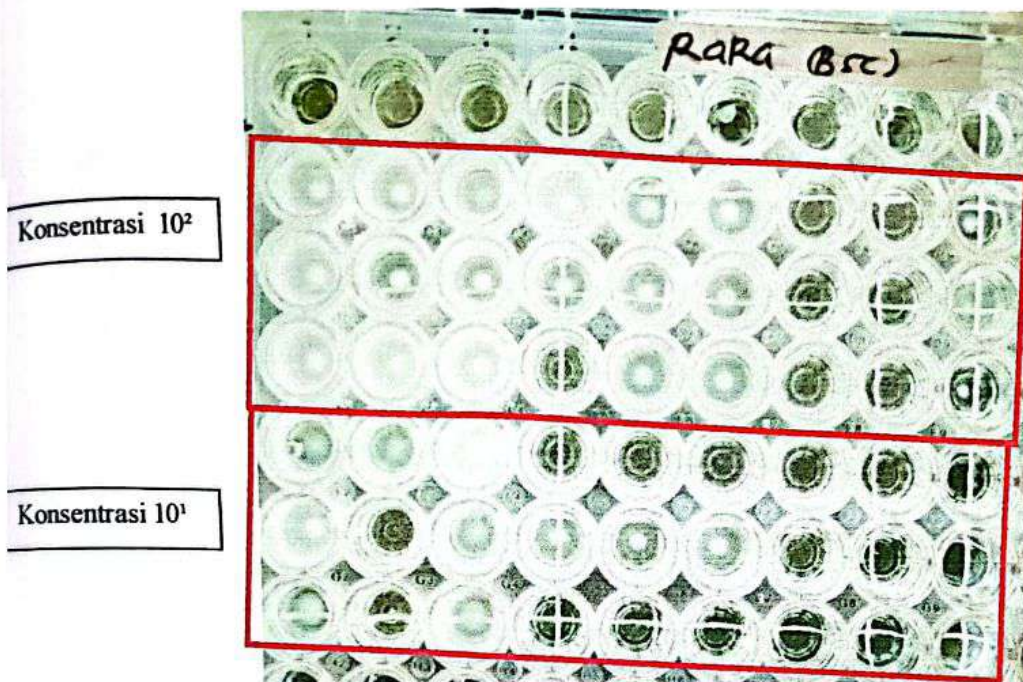
Gambar 5.3 Uji metode m-MPN menggunakan konsentrasi 10^3 dengan 3x pengulangan.

Tabel 5.2 Jumlah bakteri coliform pada metode m-MPN

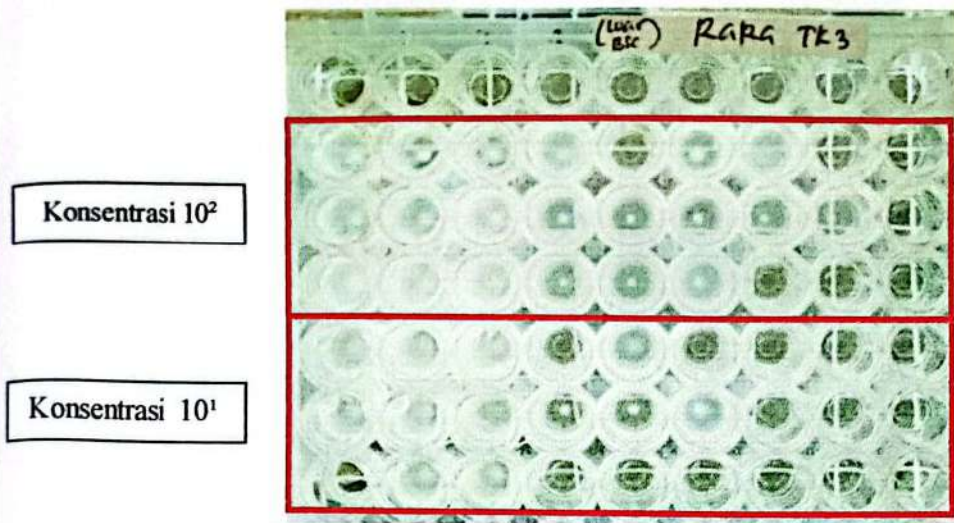
Konsentrasi 10^3			
Microplate positif			CFU/ml
3	3	3	>1100
3	3	3	>1100
3	3	2	1100
Rata-rata : 1100 CFU/ ml			

Tabel 5.1 menunjukkan hasil nilai rata-rata jumlah koloni pada metode ALT dengan konsentrasi 10^3 yaitu 2.003 CFU/ml. Pada metode m-MPN ditunjukkan pada tabel 5.2 dengan konsentrasi 10^3 didapatkan nilai rata-rata yaitu 1100

CFU/ml. Dilanjutkan tahap uji pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan metode m-MPN menggunakan konsentrasi 10^1 dan 10^2 .



Gambar 5. 4 uji m-MPN di dalam BSC dengan konsentrasi 10^2 dan 10^1 .



Gambar 5. 5 Uji m-MPN di luar BSC dengan konsnetrasi 10^2 dan 10^1 .

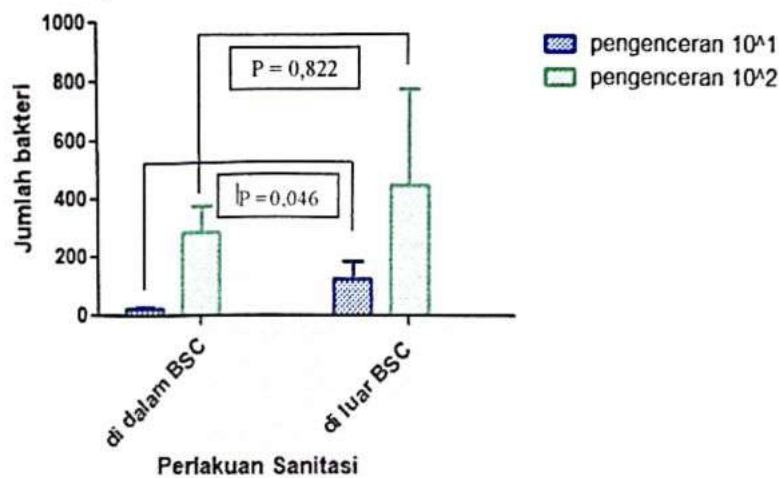
Tabel 5. 3 Jumlah bakteri *coliform* pada metode m-MPN di dalam BSC dengan konsentrasi 10^2 dan 10^1 .

Konsentrasi 10^2				Konsentrasi 10^1			
Microplate positif			CFU/ml	Microplate positif			CFU/ml
3	3	1	460	3	0	0	23
3	3	0	240	2	3	1	36
3	2	1	150	3	0	0	23
Rata-rata : 283 CFU/ml				Rata-rata : 27 CFU/ ml			

Tabel 5. 4 Jumlah bakteri *coliform* pada metode m-MPN di luar BSC dengan konsnetrasi 10^2 dan 10^1 .

Konsentrasi 10^2				Konsentrasi 10^1			
Microplate positif			CFU/ml	Microplate positif			CFU/ml
3	2	1	150	3	1	0	43
3	3	2	1100	3	3	0	240
3	3	0	240	2	0	0	92
Rata-rata : 496 CFU/ml				Rata-rata : 97 CFU/ ml			

Grafik jumlah bakteri metode m-MPN



Gambar 5. 6 Grafik jumlah bakteri coliform metode m-MPN dengan pengaruh sanitasi.

Pada tabel 5.4, tabel 5.5 dan gambar 5.6 menunjukkan jumlah bakteri dengan rata-konsentrasi $10^2 = 283$ CFU/ml. Kemudian pada metode m-MPN di luar BCS pada konsentrasi $10^1 = 97$ CFU/ml dan konsentrasi $10^2 = 496$ CFU/ml. kemudian hasil dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik *Mann Whitney U*

A

Test Statistics^a

	jumlah koloni bakteri
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-.225
Asymp. Sig. (2-tailed)	.822
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^b

B

Test Statistics^a

	jumlah bakteri
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^b

Tabel 5. 5 Uji Mann Whitney u perbedaan pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC; A. konsentrasi 10^2 , B. konsentrasi 10^1 .

Berdasarkan tabel 5.6 menunjukan nilai signifikan pada metode m-MPN dengan pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan konsentrasi 10^2 didapatkan hasil nilai sig 0.822, $0,822 > 0,05$ yang artinya H_0 diterima yaitu tidak terdapat perbedaan secara nyata antara jumlah bakteri coliform yang tumbuh pada pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan konsentrasi 10^2 . Sedangkan nilai signifikan pada metode m-MPN dengan pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan konsentrasi 10^1 didapatkan hasil nilai sig 0.046, $0,046 < 0,05$ yang artinya H_a diterima yaitu terdapat perbedaan secara nyata antara jumlah bakteri coliform yang tumbuh pada pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan konsentrasi 10^1 .

Setelah didapatkan hasil pada microplate, dilakukan dengan uji konfirmasi pada media Endo agar. Ambil sampel pada lubang microplate yang positif pada perlakuan sanitasi menggunakan cotton but steril. Kemudian inokulasikan sampel pada media Endo Agar dan inkubasi selama 24 pada suhu 37°C . Baca hasil dengan melihat pertumbuhan koloni bakteri yang berwarna hijau metalik. Jika koloni bakteri berwarna hijau metalik menandakan bahwa sampel yang digunakan merupakan bakteri *Klebsiella pneumonia*.



Gambar 5. 7 Media Endo pada uji konfirmasi yang ditumbuhi bakteri *Klebsiella pneumoniae*.

BAB VI

PEMBAHASAN

Bakteri coliform merupakan bakteri yang digunakan sebagai tanda adanya kontaminasi dan kondisi yang buruk terhadap makanan dan minuman. Kehadiran bakteri coliform dalam makanan atau minuman menunjukkan adanya kemungkinan mikroba yang bersifat patogen yang berbahaya bagi kesehatan tubuh. Penelitian ini dimulai dari tahap pembuatan isolat bakteri menggunakan media Endo Agar, kultur bakteri menggunakan media BHIB, menentukan OD 1 dengan menggunakan konsentrasi 10^1 dan 10^2 . Kemudian membandingkan metode ALT dan m-MPN, melakukan uji pengaruh sanitasi dengan pengerjaan di dalam BSC dan di luar BSC pada media m-MPN dan melakukan uji konfirmasi menggunakan media Endo Agar.

Pembuatan isolat bakteri menggunakan media Endo Agar pada penelitian ini menggunakan sampel bakteri *Klebsiella pneumonia* dengan kode sampel kp 75 yang berasal dari laboratorium STIKes Mitra Keluarga. Endo agar merupakan media kultur selektif untuk memfermentasi laktosa dan non laktosa, khususnya dalam uji konfirmasi pada metode MPN. Produksi asam dan aldehida oleh bakteri yang memfermentasi laktosa, seperti *Klebsiella pneumonia*, menimbulkan warna hijau metalik yang khas pada koloni dan media sekitarnya (ThermoFisher., 2013).

Klebsiella pneumonia merupakan bakteri yang termasuk Famili *Enterobacteriaceae* yang dapat menyebabkan pneumonia. Ciri dari bakteri *Klebsiella pneumonia* adalah bakteri gram negatif, berbentuk batang pendek, tidak memiliki spora, tidak memiliki flagel tetapi mampu memfermentasikan karbohidrat membentuk asam dan gas (Sarnia dkk., 2017). Koloni bakteri *Klebsiella pneumonia* yang tumbuh pada media Endo agar, dilakukan kultur bakteri pada media BHIB. Media BHIB merupakan media yang umum digunakan sebagai media penyubur untuk menumbuhkan bakteri. Media BHIB yang

ditumbuhi oleh bakteri akan mengalami kekeruhan pada media BHIB (Indrayati dkk., 2018). Kultur bakteri ini dilakukan untuk mendapatkan isolat bakteri yang akan dilakukan pengenceran.

Bakteri yang tumbuh pada media BHIB akan dilakukan pengenceran untuk uji perbandingan jumlah bakteri pada metode ALT dan metode m-MPN dengan menggunakan konsentrasi 10^3 . Berdasarkan tabel 5.1 dan tabel 5.2 di dapatkan jumlah bakteri rata-rata pada metode ALT 2.003 CFU/ml dan metode m-MPN 1100 CFU/ml.

Pengujian jumlah bakteri yang tidak terdapat perbedaan dilakukan pengujian kembali dan membandingkan jumlah bakteri dengan pengaruh sanitasi tempat inokulasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan menggunakan konsentrasi 10^1 dan 10^2 . Berdasarkan tabel 5.4 dan tabel 5.5 menunjukkan jumlah bakteri dengan rata-rata pada metode m-MPN di dalam BSC pada konsentrasi $10^1 = 27$ CFU/ml dan konsentrasi $10^2 = 283$ CFU/ml. Kemudian pada metode m-MPN di luar BSC pada konsentrasi $10^1 = 97$ CFU/ml dan konsentrasi $10^2 = 496$ CFU/ml. kemudian hasil dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik *Mann Whitney U* karena data tidak normal dan tidak homogen. Maka, pada konsentrasi 10^2 didapatkan nilai sig 0.822, $0,822 > 0,05$ yang artinya H_0 diterima yaitu tidak terdapat perbedaan secara nyata antara jumlah bakteri coliform yang tumbuh pada pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan konsentrasi 10^2 . Sedangkan, pada konsentrasi 10^1 didapatkan hasil nilai sig 0.046, $0,046 < 0,05$ yang artinya H_a diterima yaitu terdapat perbedaan secara nyata antara jumlah bakteri coliform yang tumbuh pada pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC. Menurut penelitian (Darren dkk., 2015) mengenai "Pengaruh Teknik Aseptik Dan Steril Pada Kontaminasi Media Kultur", Teknik steril digunakan untuk mencoba menghilangkan kontaminasi sebanyak mungkin yang dapat terjadi pada saat pengujian berlangsung. Seperti tangan, peralatan dan permukaan kerja harus steril atau bebas dari mikroorganisme, untuk menghindari adanya kontaminan yang akan

mempengaruhi hasil. Tetapi tidak bisa sepenuhnya terbebas dari mikroorganisme yang menyebabkan kontaminasi.

Uji konfirmasi dilakukan dengan penanaman media Endo Agar dengan cara hasil kekeruhan pada lubang microplate, diinokulasi menggunakan cotton bud steril pada media Endo Agar dengan Teknik kuadran, media yang diinokulasi di inkubasi pada incubator selama 24 jam. Hasil yang di dapatkan di tunjukan pada gambar 5.6 terdapat koloni *Klebsiella pneumonia* yang di tandai dengan adanya koloni berwarna hijau metalik. Komposisi dari media Endo Agar (EA) memiliki komposisi yaitu dipotassium phospat, agar, laktosa, sodium sulfit, dan basic fuchsin. Terdapatnya sodium sulfit dan basic fuchsin yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan mikroba gram positif (Thermofisher.2013).

Setiap uji metode pasti memiliki kekurangan dan kelebihan masing-masing. Uji metode ALT memiliki kelebihan, yaitu dapat mengetahui jumlah mikroba yang dominan, dan mengetahui adanya mikroba jenis lain yang terdapat dalam sampel. Sedangkan kekurangan pada uji media ALT, yaitu dapat terjadi pertumbuhan 2 jenis koloni atau lebih dan mudah terkontaminasi sehingga menghalangi bakteri yang akan ditumbuhkan (Sundari & Fadhlani, 2019). Kelebihan dari metode m-MPN adalah dapat menghemat waktu dan alat pada saat pengerjaan dan biaya yang digunakna lebih murah.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Penelitian ini dapat disimpulkan pengujian yang dilakukan dengan membandingkan jumlah bakteri dengan rata-rata pada metode m-MPN di dalam BSC pada konsentrasi $10^1 = 27$ CFU/ml dan konsentrasi $10^2 = 283$ CFU/ml. Kemudian pada metode m-MPN di luar BSC pada konsentrasi $10^1 = 97$ CFU/ml dan konsentrasi $10^2 = 496$ CFU/ml kemudian hasil dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik *Mann Whitney U* didapatkan hasil konsentrasi 10^2 dengan nilai sig 0.822, $0,822 > 0,05$ yang artinya H_0 diterima yaitu tidak terdapat perbedaan secara nyata antara jumlah bakteri coliform yang tumbuh pada pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC dengan konsentrasi 10^2 . Sedangkan, hasil konsentrasi 10^1 dengan nilai sig 0.046, $0,046 < 0,05$ yang artinya H_a diterima yaitu terdapat perbedaan secara nyata antara jumlah bakteri coliform yang tumbuh pada pengaruh sanitasi di dalam BSC dan di luar BSC

B. Saran

Saran untuk penelitian ini dapat dilakukan pengujian dengan parameter yang lain dan dapat menggunakan sampel air minum.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, D., Rahmawati, & Rusmiyanto, E. P. W. (2019). Angka Paling Mungkin (Most Probable Number/MPN) Coliform Sampel Kue Bingke Berendam di Pontianak. *Jurnal Protobiont*, 8(1), 64–68. <https://doi.org/10.26418/protobiont.v8i1.30864>
- 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>
- Colla, F., Rodrigues, L., Dickel, E., Nascimento, V., & Santos, L. (2016). Enumeration of *Salmonella* sp in Artificially Contaminated Chicken Meat. *Journal Of Biomedical Science*, 16(1), 45–48.
- Darren, M.B., et all. (2015). The Effects Of Aseptic And Sterile Technique On Contamination In Microbe Cultures. https://www.frostburg.edu/student-life/rmsc/_files/pdf/projects/2009microbes.pdf
- 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>
- Hustasoid. D.P. (2020). Pengaruh Sanitasi Makanan dan Kontaminasi Bakteri *Escherichia coli* Terhadap Penyakit Diare Pendahuluan. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*. 9(2), 779–786. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.399>
- Indrayati, S., Siti, D., & Akma, F. (2018). Peranan Monosodium Glutamat Sebagai Media Penyubur Alternatif Pengganti Brain-heart Infusion Broth (BHIB) Untuk Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Prosiding Seminar Kesehatan Perintis E*, 1(1), 2622–2256.
- Kamaliah. (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.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2019). *Laporan Riskesdas 2018 Nasional.pdf* (p. 674).
- Krisnamurti, G.C. (2017). Penghitungan Jumlah Sel Bakteri Dengan Metode Most Probable Number (MPN). *Prosiding Seminar Nasional SIMBIOSIS II, Madiun, 30 September 2017 p-ISSN: 9772599121008 e-ISSN: 9772613950003. September*, 329–341.
- Kumalasari, E., & Prihandiwati, E. (2018). Analisis Kuantitatif Bakteri Coliform Pada Depot Air Minum Isi Ulang Yang Berada Di Wilayah Kayu Tangi Kota Banjarmasin. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 3(1), 134–144.
- Kurahman, T., Saputri, R., Studi, P., Farmasi, S., Kesehatan, F., Mulia, U. S., Selatan, K., & Artikel, I. (2022). Analisis Cemarkan Bakteri Coliform Dan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* Pada Air Galon Didesa Sungai Danau.

- Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*. 3(1), 76–86.
- Kurniawan, F. B., Asrori, A., & Alfreda, Y. W. K. (2021). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Metode MPN Pada Air Isi Ulang Di Perumnas IV Waena Abepura Tahun 2021. *Gema Kesehatan*, 13(1), 69–74. <https://doi.org/10.47539/gk.v13i1.170>
- Mursalin. (2018). Pemeriksaan Angka Lempeng Total Bakteri pada Minuman Sari Kedelai yang Diperjualbelikan di Kecamatan Manggala Kota Makassar. *Jurnal Media Analisis Kesehatan*, 1(1), 56–61.
- Nisa, A. S., Hastuti, U. S., Witjoro, A., & Masalah, R. (2012). Analisis Mikrobiologi Minuman Teh Seduhan Berbeda Merk Berdasarkan Nilai MPN Coliform Di Kota Malang. *Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS 2012*. 518–523.
- Nurmalika, L.M., & Apriyani, R.K. (2021). Identifikasi Bakteri Coliform Pada Air Rendaman Tahu Yang Dijual Di Pasar Induk Kota Bandung. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 5(2), 1118–1125.
- Pasaribu, D. M. R., Arly, F. E., & Gunardi, W. D. (2019). Penilaian Kualitas Air Minum Menggunakan Smart Water Station dengan Parameter Mikrobiologi Angka Paling Mungkin dan Angka Lempeng Total di Fakultas Kedokteran Ukrida. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 25(2), 66–74.
- Precha, N., Rattanaphan, C., Galiga, T., Makkaew, P., Narom, N., & Jawjit, S. (2022). Bacteriological Quality of Drinking Water and Hygienic Assessment of Water Cooler Dispensers in Higher Education Institution. *International Journal of Preventive Medicine*. 13(77) 1–5. <https://doi.org/10.4103/ijpvm.IJPVM>
- Riskesdas. (2018). Laporan Riskesdas Provinsi Jawa Barat. In *Lembaga Penerbit Badan Litbang Kesehatan*. <https://litbang.kemkes.go.id>
- Sarnia, S., Natsir, H., & Dali, S. (2017). Prokduksi Dan Karakteristik Enzim Kitonase Dari Isolat Bakteri *Klebsiella sp.* *Techno: Jurnal Penelitian*, 4(02), 08–15. <http://www.ejournal.unkhair.ac.id/index.php/Techno/article/view/339>
- Sundari, S., & Fadhlani. (2019). Uji Angka Lempeng Total (ALT) pada Sediaan Kosmetik Lotion X di BBPOM Medan. *Jurnal Biologica Samudra*, 1(1), 25–28.
- Thermofisher. "Dehydrated Culture Media". diakses 15 Juni 2023. http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0479&c=UK&lang=E
- Tuang, A. (2021). Analisis Analisis Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diare pada Anak. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada*, 10(2), 534–542. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v10i2.643>
- Tungadi, R. (2017). Teknologi Sediaan Steril. In *Sagung Seto*. <http://bppsdmk.kemkes.go.id/pusdiksdmk/wp-content/uploads/2017/08/Praktikum-Teknologi-Sediaan-Steril-Komprehensif.pdf>
- WHO. (2017). Diarrhoeal Disease. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>
- Yulinar, E., Mahyarudin. & Fitriangga, A. (2022). Deteksi bakteri coliform pada minuman sari tebu (*Saccharum officinarum*) di Pontianak Utara. *Jurnal*

Cerebellum. 8(3), 23–29.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Formulir usulan judul/ topik penelitian.

FORMULIR USULAN JUDUL/TOPIK KTI

Bekasi, 1 November 2022

Hal : Pengajuan Judul KTI

Kepada Yth :
Koordinator Prodi DIII Analisis Kesehatan
STIKes Mitra Keluarga

Dengan hormat, saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Musnka Sif Rahayu
NIM : 202003010
Prodi : D3 TLM
Semester : Lima / 5

Mengajukan judul tugas akhir sebagai berikut :

No.	Judul Tugas Akhir
1	Perbandingan tingkat kepuasan konsumen pada segel kateter di pasar tradisional dan pasar modern
2	Gambaran tingkat dan kualitas pengetahuan konsumen di apoteker dan penjual makanan Inggris
3	Analisa cemaran bakteri pada air minum menggunakan metode MPN dengan memperhatikan sanitasi

Besar harapan saya salah satu judul diatas dapat disetujui, dan atas perhatian Bapak/Ibu diucapkan terima kasih.

Pemohon



(Musnka Sif Rahayu)
NIM. 202003010

Lampiran 2 Persetujuan judul KTI oleh pembimbingan

PERSETUJUAN JUDUL KTI OLEH PEMBIMBING

Setelah diperiksa data – data yang terkait dengan judul dan tema, judul yang akan menjadi objek pemenuhan tugas akhir saudara :

Nama : Mustiko Siti Rahayu
NIM : 201003010
Judul :

Judul Tugas Akhir
Pengaruh Sanitasi Tempat TerhadiP Pertumbuhan Bakteri Coliform Dengan Menggunakan Metode Miniaturized Most Probable Number (m-MPN)

Belum pernah dijadikan oleh mahasiswa sebelumnya, dan dapat diajukan sebagai objek pemenuhan tugas akhir. Demikian persetujuan ini diberikan.

Bekasi,
Pembimbing KTI



Neor Andryan Piliang
NIDN. 0308059101

Lampiran 3 Lembar konsultasi KTI

MP-AKDK-24/F1
No. Revisi 0.0LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR
PRODI DIHITLMNama Mahasiswa : Musnika Sri RahayuJudul : Deteksi Cemaran Bakteri Coliform Pada air minum menggunakan metode miniature most probable number dengan pengaruh salinitasDosen Pembimbing : Ardyan, Lisn, Ph.D

No	Hari / Tanggal	Topik	Masukan	Paraf		Bukti SS Bimbingan
				Mahasiswa	Pembimbing	
1.	Jumat 16-09-2022	memeriksa Judul Penelitian	menggunakan MMPN & menjelaskan tekniknya	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
2.	Jumat 23-09-2022	Pemahaman Judul Penelitian	menggunakan pengaruh sebagai pembedu	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
3.	Jumat 21-10-2022	Bab I Latar Belakang	Latar Belakang harus mengambarkan alih pindah	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
4.	Selasa 01-11-2022	Metode & sampel Penelitian	menggunakan MMPN	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
5.	Selasa 27-12-2022	Pemahaman Metode	membandingkan hasil MMPN dg MPN konvensional	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
6.	Selasa 03-01-2023	Proposal Penelitian	PPT harus jelas & di tambahkan gambar	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
7.	15-02-2023	Metode Perbandingan MMPN	sebagai metode MPN menjadi ALT sebagai perbandingan	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
8.	24-02-2023	Metode Perbandingan MMPN	metode dan menguji teknik yang menyebabkan kesalahan	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
9.	03-03-2023	Metode Perbandingan MMPN	metode mengolah data yang ada dengan SPSS	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
10.	13-06-2023	Hasil analisis data	penulisan huruf, tam- bahkan nilai rata-rata & persentase	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
11.	14-06-2023	Hasil & Pembahasan	menambahkan tabel, hasil, persentase dan hasil	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	
12.	15-06-2023	Abstrak	Membuat PPT	<i>[Signature]</i>	<i>[Signature]</i>	

Lampiran 4 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 5 Dokumentasi kegiatan



Pembuatan media



Pembuatan isolat bakteri



Pengujian coliform dengan metode m-MPN dan ALT



Perhitungan jumlah koloni bakteri