

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Peranan Air terhadap Kesehatan**

Air merupakan senyawa anorganik, tidak berbau, tidak berasa yang tersusun oleh atom hidrogen dan oksigen atau disebut H<sub>2</sub>O. Air bagi manusia biasanya digunakan untuk mandi, mencuci, memasak dan yang utama adalah digunakan untuk minum. Menurut WHO di Negara-negara maju setiap orang memerlukan air sekitar 60-120 liter per hari. Sedangkan di Negara-negara berkembang seperti Indonesia setiap orang memerlukan air sekitar 30-60 liter per hari. Kegunaan air tersebut yang terpenting adalah kebutuhan untuk minum. Untuk keperluan minum atau untuk keperluan makan air harus memiliki persyaratan yang khusus agar air tersebut tidak menimbulkan penyakit bagi manusia (Sisca, 2016).

Air adalah zat terbanyak di antara zat lainnya dari semua komposisi yang terkandung dalam tubuh manusia. Meskipun tidak sama antara seseorang dengan orang yang lainnya, secara umum kandungan air dalam tubuh manusia tidak jauh berbeda. Ketika masih bayi, kandungan air yang dimiliki manusia adalah sekitar 90%, saat dewasa berkurang menjadi 70%, kemudian setelah lanjut usia berkurang lagi menjadi sekitar 50%. Air berperan penting bagi kesehatan, karena umumnya 75-80% bagian yang ada di dalam tubuh manusia berbentuk cairan (Salim dan Taslim, 2021).

Air mempunyai kandungan zat gizi yang bisa membantu melarutkan berbagai macam zat kimia pada tubuh, sehingga wajib bagi manusia untuk konsumsi air setiap hari sebanyak delapan gelas atau dua liter per hari. Banyak manusia sering kali melupakan peranan penting air bagi kesehatan, karena banyak orang yang sibuk melakukan aktivitas masing-masing dan tidak merasa lelah sehingga lupa untuk mengonsumsi air secara teratur, banyak orang juga memiliki kebiasaan dalam mengonsumsi air minum hanya ketika haus saja. Hal tersebut

dapat mengakibatkan pengeluaran dan pemasukan air yang terjadi pada tubuh manusia tidak seimbang. Kejadian tersebut dapat mengakibatkan seseorang mengalami dehidrasi. Dehidrasi adalah gejala dimana seseorang mengalami kekurangan air atau cairan dalam tubuhnya yang diakibatkan dari ketidakseimbangan antara pengeluaran dan pemasukan air dalam tubuh. Tubuh mengalami kekurangan cairan disebabkan oleh kurangnya jumlah cairan yang masuk ke dalam tubuh. Tubuh mengeluarkan cairan melalui pernafasan, keringat, urine, dan tinja (Ramadhan, R.I, 2016).

Ciri-ciri air yang layak untuk dikonsumsi adalah warna air bening tidak keruh, air tidak berbau, rasanya tidak aneh, tidak ada endapan, suhunya 10-20, tidak mengandung bahan kimia dan memiliki pH 6,5-9,2, tidak boleh mengandung bakteri *Coliform* dan bakteri *Escherichia coli*. Waktu yang terbaik bagi kesehatan untuk mengonsumsi air minum adalah saat bangun tidur di pagi hari, sebelum makan, sebelum dan sesudah olahraga, sebelum mandi, sebelum tidur, ketika merasa lelah bekerja. Briawan et al. (2011) menyatakan bahwa kebutuhan air yang dianjurkan pada pedoman gizi seimbang dapat berubah setiap waktunya. Kebutuhan air tergantung pada beberapa faktor-faktor yang berperan penting seperti usia, jenis kelamin, frekuensi aktivitas fisik, serta faktor lingkungan.

Menurut Metta (2011) tubuh manusia yang kekurangan air akan menyebabkan berbagai macam penyakit antara lain sakit pinggang, rematik, tukak saluran pencernaan, nyeri tulang leher, tekanan darah tinggi, kolesterol tinggi, berat badan berlebihan, asma, kencing manis, stroke, batu ginjal dan sembelit.

## **2.2 Air Minum**

Berdasarkan Permenkes RI No.492//Menkes/Per/IV/2010 air minum adalah air yang melalui proses pengolahan atau tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum. Persyaratan air minum yang aman bagi kesehatan apabila memenuhi persyaratan fisika, mikrobiologis, kimiawi, dan radioaktif yang dimuat dalam parameter wajib dan parameter tambahan. Air minum harus mempunyai kualitas yang aman dan tidak mengandung mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit seperti diare.

Penyakit diare terjadi disebabkan oleh air yang telah tercemar oleh bakteri seperti bakteri *Coliform*. Bakteri *Coliform* merupakan golongan bakteri intestinal yang hidup di dalam saluran pencernaan manusia yang dapat menimbulkan berbagai penyakit bagi manusia, seperti diare yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli*.

**Tabel 2. 1 Persyaratan kualitas air minum (parameter wajib) sesuai Peraturan Menteri Kesehatan No.492/Menkes/Per/IV/2010**

No	Parameter	Satuan	Kadar maksimum yang diperbolehkan
1	Parameter yang berhubungan langsung dengan kesehatan		
	a. Parameter mikrobiologi		
	1) <i>E.coli</i>	Jumlah per 100 ml sampel	0
	2) Total bakteri <i>Coliform</i>	Jumlah per 100 ml sampel	0
	b. Kimia anorganik		
	1) Arsen	Mg/l	0,01
	2) Florida	Mg/l	1,5
	3) Total kromium	Mg/l	0,05
	4) Kadmium	Mg/l	0,003
	5) Nitrit (sebagai NO <sub>2</sub> )	Mg/l	3
	6) Nitrat (sebagai NO <sub>3</sub> )	Mg/l	50
	7) Sianida	Mg/l	0,07
	8) Selenium	Mg/l	0,01
2	Parameter yang tidak langsung berhubungan dengan kesehatan		
	a. Parameter fisik		
	1) Bau		Tidak berbau
	2) Warna	TCU	15
	3) Total zat padat terlarut (TDS)	Mg/l	500
	4) Kekeruhan	NTU	5
	5) Rasa		Tidak berasa
	6) Suhu	°C	Suhu udara ±3
	b. Parameter kimiawi		
	1) Alumunium	Mg/l	0,2
	2) Besi	Mg/l	0,3
	3) Kesadahan	Mg/l	500
	4) Klorida	Mg/l	250
	5) Mangan	Mg/l	0,4
	6) pH		6,5-8,5
	7) Seng	Mg/l	3
	8) Sulfat	Mg/l	250
	9) Tembaga	Mg/l	2
	10) Amonia	Mg/l	1,5

Air minum dalam kemasan adalah air baku yang telah diproses, dikemas dan aman untuk diminum yang mencakup air mineral dan air demineral. SNI 01-3553-2006 menyatakan bahwa air minum dalam kemasan selain tidak boleh mengandung bakteri patogen, juga tidak boleh mengandung cemaran mikroba yang melebihi dari < 2 koloni/100 ml sampel.

**Tabel 2. 2 Persyaratan mutu air minum dalam kemasan sesuai dengan SNI 01-3553-2006**

No	Kriteria uji	Satuan	Persyaratan	
			Air mineral	Air demineral
1	Keadaan			
	a. Bau	-	Tidak berbau	Tidak berbau
	b. Rasa		Normal	Normal
	c. Warna	Unit Pt-Co	Maks. 5	Maks. 5
	d. pH	-	6,0-8,5	5,0-7,5
	e. Kekeruhan	NTU	Maks. 1,5	Maks. 1,5
	f. Zat yang terlarut	Mg/l	Maks. 500	Maks. 10
	g. Zat organik (angka KmnO <sub>4</sub> )	Mg/l	Maks. 1,0	-
	h. Total organik karbon	Mg/l	-	Maks. 0,5
	i. Nitrat (sebagai NO <sub>3</sub> )	Mg/l	Maks. 45	-
	j. Nitrit (Sebagai NO <sub>2</sub> )	Mg/l	Maks. 0,005	-
	k. Amonium (NH <sub>4</sub> )	Mg/l	Maks. 0,15	-
	l. Sulfat (SO <sub>4</sub> )	Mg/l	Maks. 200	-
	m. Klorida (Cl)	Mg/l	Maks. 250	-
	n. Fluorida (F)	Mg/l	Maks. 1	-
	o. Sianida (CN)	Mg/l	Maks. 0,05	-
	p. Besi (Fe)	Mg/l	Maks. 0,1	-
	q. Mangan (Mn)	Mg/l	Maks. 0,05	-
	r. Klor bebas (Cl <sub>2</sub> )	Mg/l	Maks. 0,1	-
	s. Kromium (Cr)	Mg/l	Maks. 0,05	-
	t. Barium (Ba)	Mg/l	Maks. 0,7	-
	u. Boron (B)	Mg/l	Maks. 0,3	-
	v. Selenium (Se)	Mg/l	Maks. 0,01	-
2	Cemaran logam			
	a. Timbal (Pb)	Mg/l	Maks. 0,005	Maks. 0,005
	b. Tembaga (Cu)	Mg/l	Maks. 0,5	Maks. 0,5
	c. Kadmium (Cd)	Mg/l	Maks. 0,003	Maks. 0,003
	d. Raksa (Hg)	Mg/l	Maks. 0,001	Maks. 0,001
	e. Perak (Ag)	Mg/l	-	Maks. 0,025
	f. Kobalt (Co)	Mg/l	-	Maks. 0,01
3	Cemaran arsen	Mg/l	Maks. 0,01	Maks. 0,01
4	Cemaran mikroba			
	a. Angka lempeng total awal	Koloni/ml	Maks. 1,0 x 10 <sup>2</sup>	Maks. 1,0 x 10 <sup>2</sup>
	b. Angka lempeng total akhir	Koloni/ml	Maks. 1,0 x 10 <sup>5</sup>	Maks. 1,0 x 10 <sup>5</sup>
	c. Bakteri bentuk koli	APM/100 ml	<2	<2
	d. <i>Salmonella</i>	-	Negatif/100 ml	Negatif/100 ml
	e. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Koloni/ml	0	0

### **2.2.1 Sumber Air Minum**

Menurut Theresia, P & Shirley, W (2015) menyatakan bahwa terdapat beberapa sumber air minum yang dapat diperoleh dari beberapa sumber.

#### **1. Air Hujan**

Air hujan memiliki sifat yang lunak karena tidak mengandung garam dan zat-zat mineral. Air hujan dapat bersifat korosif karena mengandung zat-zat yang terdapat di udara seperti  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$  agresif, ataupun  $\text{SO}_2$ . Dari segi kuantitas, air hujan tergantung pada besar kecilnya hujan, sehingga tidak mencukupi jika digunakan untuk persediaan umum karena jumlahnya yang berfluktuasi. Air hujan juga tidak secara kontinu dapat diperoleh karena sangat tergantung pada musim.

Pemanfaatan air hujan sebagai sumber air bersih untuk kebutuhan sehari-hari individu perorangan atau berkelompok atau pemerintah, biasanya dibuat sumur dan tangki air untuk menyimpan air bersih guna memenuhi kebutuhan hidup tersebut.

#### **2. Air Permukaan**

Air permukaan yang biasa digunakan sebagai sumber air baku adalah air waduk, sungai, dan danau. Pada umumnya, air permukaan telah terkontaminasi zat-zat yang berbahaya bagi kesehatan, sehingga memerlukan pengolahan terlebih dahulu sebelum dikonsumsi oleh masyarakat. Kuantitas dan kontinuitas air permukaan sebagai sumber air baku cukup stabil.

#### **3. Air Tanah**

Air tanah mengandung garam dan mineral yang terlarut pada waktu air melalui lapisan-lapisan tanah, serta bebas dari polutan. Namun tidak menutupi kemungkinan bahwa air tanah tercemar oleh zat-zat yang mengganggu kesehatan, seperti Fe, Mn, kesadahan. Berdasarkan kedalamannya, air tanah dibedakan menjadi air tanah dangkal dan air tanah dalam. Air tanah dangkal kualitasnya lebih rendah daripada air tanah dalam. Secara kuantitas, air tanah dapat mencukupi kebutuhan air bersih. Tetapi dari segi kontinuitas,

pengambilan air tanah harus dibatasi, karena pengambilan yang terus menerus dapat menyebabkan penurunan muka air tanah dan intrusi air laut.

#### **4. Air Danau**

Air danau yang melalui proses *treatment* terlebih dahulu dapat digunakan untuk kehidupan sehari-hari. Air danau sebagai sumber dari air bersih dibendung untuk menyimpan air yang dapat digunakan pada saat musim kering. Gunanya untuk memenuhi kebutuhan irigasi di lahan pertanian.

#### **5. Air Sungai**

Banyak sungai yang terdapat di Indonesia, tetapi hanya sedikit jumlahnya yang airnya dapat langsung dimanfaatkan untuk kebutuhan sehari-hari. Oleh karena itu sebelum dimanfaatkan air sungai perlu diproses *treatment* dahulu, yang disebut *river water treatment*. Dalam kehidupan sehari-hari banyak dijumpai galon isi ulang yang airnya berasal dari hasil proses *river water treatment*.

Sistem pengolahan air bersih (*water treatment*) dengan sumber air bakunya berasal dari air sungai, air tanah dan air pegunungan untuk bisa dijadikan air minum, memerlukan beberapa proses. Proses yang diperlukan tergantung dari kualitas air baku, antara lain sebagai berikut.

- a. Proses penampungan air di dalam bak penampungan air yang bertujuan sebagai tolak ukur debit air bersih yang dibutuhkan.
- b. Proses oksidasi
- c. Proses pengendapan atau koagulasi.
- d. Proses filtrasi yang bertujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran air yang masih terkandung dalam air.
- e. Proses filtrasi (carbon actived), yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas air supaya air yang dihasilkan tidak mengandung bakteri serta rasa dan aroma air.
- f. Proses terakhir adalah proses pembunuhan bakteri, virus, jamur, mikroba, dan bakteri lainnya.

## **6. Air Pegunungan**

Sumber air yang layak dan baik untuk dikonsumsi adalah sumber air yang berasal dari mata air pegunungan vulkanik karena sumber air tersebut memenuhi syarat karakteristik sumber air tanah yaitu kualitas, kuantitas, dan kontinuitas. Secara kualitas sumber air yang berasal dari mata air pegunungan vulkanik dapat memenuhi persyaratan fisik, kimia dan biologi kualitas air untuk dikonsumsi, karena letak sumbernya jauh di bawah permukaan tanah dan berlokasi di atas ketinggian pegunungan yang masih terjaga kelestarian dan keasliannya. Banyak masyarakat yang membuka DAMIU dengan mengambil sumber air dari pegunungan, umumnya air pegunungan memiliki kualitas yang baik, yaitu mengandung banyak mineral yang sesuai dengan kebutuhan dan kesehatan sehingga tidak mengandung unsur-unsur pencemaran yang dapat mengganggu kesehatan tubuh.

### **2.2.2 Persyaratan Air Minum**

Menurut Kusnaedi (2010) kualitas air yang digunakan sebagai air minum sebaiknya memenuhi persyaratan secara fisik, kimia dan mikrobiologi.

#### **1. Persyaratan Fisik**

Air yang berkualitas baik harus memenuhi persyaratan fisik sebagai berikut.

##### **a. Tidak berwarna**

Air untuk keperluan rumah tangga harus Jami. Air yang berwarna berarti mengandung bahan-bahan lain yang berbahaya bagi kesehatan.

##### **b. Temperatur normal**

Air yang baik harus memiliki temperatur yang sama dengan temperatur udara (20-26°C). Air secara mencolok mempunyai temperatur diatas atau dibawah temperatur udara, berarti mengandung zat-zat tertentu (misalnya, fenol yang terlarut di dalam air cukup banyak) atau sedang terjadi proses tertentu (proses dekomposisi bahan organik oleh mikroorganisme yang

menghasilkan energi) yang mengeluarkan atau menyerap energi dalam air.

c. Rasanya tawar

Air bisa dirasakan oleh lidah. Air yang terasa asam, manis, pahit, atau asin menunjukkan bahwa kualitas air tersebut tidak baik. Rasa asin disebabkan oleh adanya garam tertentu yang larut dalam air, sedangkan rasa asam diakibatkan adanya asam organik maupun asam anorganik.

d. Tidak berbau

Air yang baik memiliki ciri tidak berbau bila dicium dari jauh maupun dari dekat. Air yang berbau busuk mengandung bahan organik yang sedang mengalami dekomposisi (penguraian) oleh mikroorganisme air.

e. Jernih atau tidak keruh

Air yang keruh disebabkan oleh adanya butiran-butiran koloid dari bahan tanah liat. Semakin banyak kandungan koloid maka air semakin keruh. Derajat kekeruhan dinyatakan dengan satuan unit.

f. Tidak mengandung zat padatan

Air minum yang baik tidak boleh mengandung zat padatan, walaupun jernih, air yang mengandung padatan yang terapung tidak baik digunakan sebagai air minum. Apabila air dididihkan, zat padat tersebut dapat larut sehingga menurunkan kualitas air minum.

## 2. Persyaratan Kimia

Kualitas air tergolong baik bila memenuhi persyaratan kimia sebagai berikut.

a. pH netral

Derajat keasaman air minum harus netral, tidak boleh bersifat asam maupun basa. Air yang mempunyai pH rendah akan terasa asam. Contoh air alam yang terasa asam adalah air gambut. Skala pH diukur dengan pH meter atau kertas lakmus. Air murni mempunyai



pH 7. Apabila pH di bawah 7, berarti air bersifat asam. Bila di atas 7, berarti bersifat basa (rasanya pahit).

b. Tidak mengandung bahan kimia beracun

Air yang berkualitas baik tidak mengandung bahan kimia beracun seperti sianida sulfida dan fenolik.

c. Tidak mengandung garam atau ion-ion logam

Air yang berkualitas baik tidak mengandung garam atau ion logam seperti Fe, Mg, Ca, K, Hg, Zn, Mn, D, dan Cr.

d. Kesadahan rendah

Tingginya kesadahan berhubungan dengan garam-garam yang terlarut di dalam air terutama garam Ca dan Mg.

e. Tidak mengandung bahan organik

Kandungan bahan organik dalam air dapat terurai menjadi zat-zat yang berbahaya bagi kesehatan. Bahan-bahan organik itu seperti  $\text{NH}_4$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , dan  $\text{NO}_3$ .

### 3. Persyaratan Mikrobiologis

Persyaratan mikrobiologis yang harus dipenuhi oleh air adalah sebagai berikut.

a. Tidak mengandung bakteri patogen, misalnya bakteri golongan *Escherichia Coli*, *Salmonella typhi*, *vibrio cholerae*. Kuman-kuman ini mudah tersebar melalui air (*transmitted by water*).

b. Tidak mengandung bakteri non patogen, seperti *Actinomycetes*, *Phytoplankton Coliform*.

### 2.3 Bakteri Coliform

Bakteri *Coliform* adalah bakteri fakultatif anaerob, gram negatif, bakteri berbentuk batang dan tidak berspora, koloni berwarna merah dengan kemilau logam (emas) dalam 24 jam pada 35 °C pada medium tipe akhir yang mengandung laktosa. Dalam air, bakteri Coliform tidak memiliki rasa, bau atau warna. Jadi identifikasi keberadaan bakteri sangat sulit (Divya dan Solomon, 2016).

Bakteri *Coliform* dapat meragi laktosa membentuk asam dan gas pada suhu 37°C dalam waktu 48 jam. Bakteri *Coliform* dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu *fecal Coliform* dan *Non-fecal Coliform*. *Fecal Coliform* adalah

bakteri *Coliform* yang berasal dari tinja manusia ataupun hewan berdarah panas lainnya, sedangkan *Coliform non-fecal* adalah bakteri *Coliform* yang ditemukan pada hewan atau tanaman-tanaman yang telah mati. Salah satu contoh dari *fecal Coliform* adalah *Escherichia coli*, sedangkan *Coliform non-fecal* adalah *Enterobacter aerogenes* (Stewardship, W., 2007).

Jika pengujian air ditemukan total *Coliform* berada di antara 30-300 koloni, maka kita juga harus menguji air untuk *Escherichia coli*. Apabila hasilnya menunjukkan adanya *fecal Coliform*, maka sudah dapat diindikasikan bahwa kontaminasi dari air tersebut berasal dari feses manusia ataupun hewan. Masalah utama yang harus dihadapi dalam pengolahan air ialah semakin tingginya tingkat pencemaran air, baik pencemaran yang berasal dari air limbah rumah tangga maupun limbah industri, sehingga upaya-upaya baru terus dilakukan untuk mendapatkan sumber air, khususnya untuk pemenuhan akan air minum yang memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Dalam pengelolaannya, air minum isi ulang rentan terhadap kontaminasi dari berbagai mikroorganisme terutama bakteri *coliform* (Stewardship, W., 2007).

Bakteri *Coliform* adalah golongan bakteri intestinal yang hidup di dalam saluran pencernaan manusia (Madigan dkk, 2019). Bakteri *Coliform* digunakan sebagai indikator adanya pencemaran bakteri pada uji kualitas air. Keberadaan bakteri *Coliform* mengindikasikan adanya kontaminasi dan kondisi sanitasi yang tidak baik pada bahan pangan (Suroño dkk, 2018). Semakin sedikit kandungan *Coliform*, artinya kualitas air semakin baik. Semakin tinggi tingkat kontaminasi bakteri *Coliform*, semakin tinggi pula resiko kehadiran bakteri patogen lain yang dapat hidup di dalam kotoran manusia dan hewan. Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri patogen yang dapat hidup di dalam kotoran manusia dan hewan. Bakteri *Escherichia coli* merupakan mikroba yang dapat menyebabkan gejala diare, demam, kram perut, dan muntah-muntah (Bambang, 2014).

Baku mutu total *Coliform* dalam air minum telah diatur dalam Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010 tentang persyaratan kualitas air minum. Dalam peraturan tersebut total *Coliform* tergolong parameter yang berhubungan langsung dengan kesehatan. Peraturan ini juga menyebutkan kadar maksimum total *Coliform* yang diperbolehkan dalam air minum adalah 0 (nol)

dengan satuan jumlah per 100 ml sampel. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) 01-3553-2006 batasan cemaran maksimum mikroba bakteri Coliform pada air minum dalam kemasan yaitu  $<2 /100$  ml.

#### **2.4 Metode MPN (*Most Probable Number*)**

Metode *Most Probable Number* (MPN) merupakan salah satu cara pemeriksaan yang dilakukan untuk mendeteksi dan menghitung total *Coliform* yang ada di dalam air yang bisa menandakan suatu kontaminasi (Marhamah S, 2013).

Metode MPN (*Most Probable Number*) juga merupakan suatu metode yang digunakan untuk mendeteksi populasi mikroba baik di lahan, perairan dan produk agrikultur. Metode ini digunakan untuk mendeteksi populasi mikroba berdasarkan pada ukuran kualitatif spesifik dari jasad renik yang sedang terhitung. Untuk menetapkan ada atau tidaknya bakteri *Coliform* dalam air sehingga diperoleh indeks berdasarkan tabel MPN untuk menyatakan perkiraan jumlah bakteri *Coliform* dalam sampel (Sidabutar, 2019).

Prinsip utama dari metode MPN ini adalah mengencerkan sampel sampai tingkat tertentu sehingga akan didapatkan konsentrasi mikroorganisme yang sesuai dan jika ditanam didalam tabung kadang-kadang menghasilkan pertumbuhan yang positif (Sunarti, 2015). Metode MPN terdiri dari tiga tahap, yaitu uji penduga (*presumptive test*), uji konfirmasi (*confirmed test*), dan uji pelengkap (*completed test*).

Ada 3 macam ragam yang digunakan dalam metode MPN yaitu :

1. Ragam I : 5 x 10 ml, 1 x 1 ml, 1 x 0,1 ml.

Untuk spesimen yang sudah diolah atau angka bakterinya diperkirakan rendah.

2. Ragam II : 5 x 10 ml, 5 x 1 ml, 5 x 0,1 ml.

Untuk spesimen yang belum diolah atau yang angka bakterinya diperkirakan tinggi. Jika perlu penanaman dapat dilanjutkan dengan 5 x 0,01 ml dan seterusnya.

3. Ragam III : 3 x 10 ml, 3 x 1 ml, 3 x 0,1 ml.

Adalah ragam alternatif untuk ragam II, apabila jumlah tabung terbatas begitu pula persediaan media juga terbatas, cara perlakuannya sama dengan ragam II (Sunarti, 2015).

Dalam metode MPN untuk air minum terdapat dua tahap pemeriksaan yaitu :

a. Uji Penduga (*Presumptive Test*)

Uji penduga merupakan uji pendahuluan mengenai ada tidaknya bakteri *Coliform* berdasarkan terbentuknya asam dan gas yang disebabkan karena fermentasi laktosa oleh golongan bakteri *Coliform*. Terbentuknya asam dapat dilihat dari kekeruhan pada media laktosa dan gas yang dihasilkan dapat dilihat dalam tabung durham yang berupa gelembung udara. Tabung dinyatakan positif jika terbentuknya gas pada tabung durham. Banyaknya kandungan bakteri dapat diperkirakan dengan menghitung jumlah tabung yang positif terbentuknya gas dan asam, sehingga dapat dicocokkan dengan tabel MPN. Apabila pada inkubasi 1 x 24 jam menghasilkan negatif, maka dapat dilanjutkan dengan inkubasi 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Apabila dalam waktu 2 x 24 jam tidak terbentuknya gas dan asam, maka sampel dinyatakan negatif (Sayuti, I dkk., 2014).

b. Uji Konfirmasi (*Confirmed Test*)

Uji konfirmasi merupakan uji lanjut dari uji penduga. Uji konfirmasi digunakan untuk membuktikan tabung yang positif yaitu dengan cara menanamkan suspensi pada media EMB (*Eosin Methylene Blue*) secara aseptik dengan menggunakan jarum inokulasi. Koloni bakteri *Coliform* fekal tumbuh dengan menghasilkan warna hijau dengan kilat metalik. Sedangkan untuk koloni bakteri *Coliform non-fecal* tumbuh dengan warna merah muda (Sayuti, I dkk., 2014).

Bakteri *Coliform* dapat menghasilkan warna kemilau hijau metalik dan gelap di bagian tengah. Pada reaksi tersebut sangat khas untuk indikator utama polusi feses seperti bakteri *Escherichia coli*. (James G. Cappuccino, 2013). Bakteri gram negatif lain dapat tumbuh dengan ciri koloni berwarna coklat merah muda keunguan dan bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan terlihat merah muda pudar, hal tersebut karena bakteri tersebut lambat dalam

memfermentasikan laktosa. Bakteri yang memfermentasikan dengan lambat akan menghasilkan koloni berwarna merah muda (Alifia dan Aji, 2020).