

DETEKSI BAKTERI ENTEROPATOGENIK PADA SUMBER AIR DAN AIR MINUM DI YOGYAKARTA

Sarlen Sihombing¹⁾ dan Tri Yahya Budiarmo²⁾

Fakultas Bioteknologi

Universitas Kristen Duta Wacana

Email: ¹⁾sihombingsarlen18@gmail.com; ²⁾yahya@staff.ukdw.ac.id

ABSTRAK

Air merupakan kebutuhan yang sangat penting bagi manusia, terutama untuk minum, memasak, dan mencuci. Air yang digunakan oleh manusia harus bebas dari kontaminasi bakteri enteropatogenik sehingga tidak menimbulkan masalah kesehatan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk isolasi dan identifikasi kontaminasi bakteri enteropatogenik pada sampel air sumur, perusahaan daerah air minum (PDAM), dan air minum dalam kemasan (AMDK). Sampel air ditumbuhkan pada media selektif diferensial *Chromocult Coliform Agar* (CCA) dan *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Koloni terduga enteropatogenik di seleksi melalui uji biokimia dan dikonfirmasi menggunakan API 20E. Hasil pengujian menunjukkan bahwa sampel air sumur dan air minum dalam kemasan (AMDK) terkontaminasi bakteri enteropatogenik sebanyak 10% dari total sampel yang diuji. Berdasarkan pengujian API 20E jenis bakteri enteropatogenik pada sampel air sumur teridentifikasi sebagai *Proteus mirabilis* dengan %ID 99,9% dan 99,2% pada sampel air minum dalam kemasan teridentifikasi sebagai *Klebsiella pneumonia* dengan %ID 98,5 dan 98,0%

Kata Kunci : Enteropatogenik, air minum, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*

ABSTRACT

Water is important for humans life especially for drinking, cooking, and washing. The water should be free from contaminations of enteropathogenic bacteria so it does not cause diseases. The purpose of this study was done to isolate and identify contamination of enteropathogenic bacteria in water from the well, local drinking water companies (PDAM), and bottled drinking water (AMDK). Isolation was done by using Chromocult Coliform Agar (CCA) and Salmonella Shigella Agar (SSA) as a selective and differential media. Predictable colonies of enteropathogenic were selected with biochemical test and confirmed by API 20 E. The result showed that ten percent from total sample tested from well water and bottle water contaminated by enteropathogenic bacteria. The suspect's enteropathogenic colonies were identified as Proteus mirabilis with a percentage %ID values of 99.9% and 99.2%. The result also proved that ten percent samples from the bottled drinking water contaminated with bacteria. Based on API 20E test, the suspect's colonies were identified as Klebsiella pneumonia (ID value : 98.5% and 98.0%).

Keywords : Enteropathogenic, Drinking Water, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumonia*

PENDAHULUAN

Air merupakan kebutuhan mutlak bagi manusia, oleh karena itu air minum yang dikonsumsi harus aman dan memenuhi standar Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010. Air yang sehat memiliki kriteria seperti: tidak berbau, tidak berwarna dan tidak berasa. Selain itu, secara biologis mengharuskan air minum tidak menjadi sarana penyebaran penyakit infeksi. Namun praktek sistem pengolahan air bersih dan sanitasi yang buruk di lingkungan masyarakat menyebabkan tingginya angka kejadian *waterborne diseases*. Hal ini dibuktikan dengan hasil laporan *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) yang menunjukkan jumlah kasus penyakit karena air minum yang tercemar mencapai 8,2%, 9 kematian pada tahun 2009-2010 pada 17 negara berkembang (CDC, 2015).

Hasil laporan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2013 Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki banyak kasus *waterborne diseases* dengan angka kejadian diare tinggi pada balita, yaitu sebesar 16,7 %. Data tersebut juga menunjukkan bahwa penyebab kematian bayi (usia 29 hari-11 bulan) yang terbanyak adalah diare (31,4%) dan pnemunia (23,8%). Demikian pula penyebab kematian mencapai (15,5%). Umumnya hal ini disebabkan oleh kontaminasi bakteri enteropatogenik. Masuknya mikroorganisme patogen pada sumber air dan air minum dapat bersumber dari alam, kepadatan jumlah penduduk yang semakin besar waktu ke waktu memberikan dampak terhadap peningkatan aktivitas manusia yang tidak diikuti dengan peningkatan sanitasi lingkungan yang baik. Tangki septik (*septic tank*) merupakan salah satu permasalahan pencemaran yang ada di daerah yang padat penduduknya, seperti di Yogyakarta. Faktor-faktor yang menyebabkan kualitas air sumur kurang baik antara lain yaitu jarak tangki septik dengan air sumur yang kurang dari 10 meter. Bakteri yang sering ditemukan dalam air seperti *Shigella dysenteriae* penyebab disentri, *Salmonella paratyphi* penyebab paratifus, *Proteus mirabilis* penyebab infeksi saluran kencing dan *Klebsiella pneumonia* penyebab pnemonia (Cabral, 2010). Oleh karena itu dalam penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi bakteri enteropatogenik yang terdapat pada sumber air minum masyarakat di daerah padat penduduk seperti Klitren dan Sedayu, dan PDAM serta air minum dalam kemasan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Sampel air sumur di ambil dari daerah Kelurahan Klitren, Sedayu Bantul dan sampel dari perusahaan daerah air minum (PDAM) yang berasal dari rumah warga di daerah

Kelurahan Klitren, Sedayu Bantul, Godean dan Wongsodirjan. Sampel air minum dalam kemasan (AMDK) diambil dari 10 produk yang berbeda yang dijual di kota Yogyakarta. Deteksi Enteropatogenik pada sampel air dilakukan dari bulan Maret-Agustus 2017 di Laboratorium Bioteknologi Universitas Kristen Duta Wacana. Sampel air yang diteliti masing-masing 10 sampel sehingga total sampel berjumlah 30. Medium yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan media pengenceran mengandung NaCl 0,85%, 0,01% Tween 80, media *selective differential Chromocult Coliform Agar* (CCA), dan *Salmonella Shigella Agar* (SSA), (*Plate Count Agar*) PCA dan (*Brain Heart Infusion Agar*) BHIA untuk menyimpan isolat. Pada tahap uji biokimia menggunakan media (*Triple Sugar Iron Agar*) TSIA, dan (*Voges Proskauer*) VP broth dengan indikator barrits, (*methyl red*) MR broth dengan indikator *methyl red*, SIM Agar dengan Regaen Kovacs, Simmon Citrat Agar, Urea Broth dan API 20E (bioMerioux). Pada tahap uji glukosa menggunakan media sukrosa, dan maltosa (O'Hara *et al.*, 2000; Turner, *et al.*, 2000).

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah: Erlenmeyer, incubator, autoclave, petridish, oven, tabung reaksi serta rak tabung, pipet ukur, propipet, mikropipet dan tip, corong, gelas ukur, jarum ose, bunsen, API 20E bioMerioux dan pipet tetes.

Isolasi dan Seleksi Bakteri Enteropatogenik

Sampel air sumur dan sampel air PDAM diencerkan dalam media NaCl 0,85% dengan penambahan 0,01% Tween 80. Sampel kemudian ditumbuhkan pada media *Chromocult Coliform Agar* (CCA) dan *Plate Count Agar* (PCA). Khusus untuk sampel air minum dalam kemasan dilakukan dengan metode membran filter. Air minum disaring menggunakan filter 0,2 μm dengan sistem vakum secara aseptis, air akan melewati saringan sehingga bakteri yang ada di dalam air minum akan tertahan pada filter. Filter kemudian ditanam dalam media CCA dengan posisi terbalik, sehingga bakteri yang tertahan dapat menempel pada medium dan tumbuh dengan baik. Media CCA merupakan media yang digunakan untuk melihat jumlah bakteri coliform dan pathogen sedangkan media PCA untuk menghitung jumlah total koloni. Koloni bakteri yang terduga bakteri enteropatogenik pada media CCA. Koloni berwarna putih dan biru terang pada media CCA kemudian di streak pada media *selective differential* yaitu SS Agar, koloni berwarna merah pada media *MacConkey Agar* dan koloni berwarna biru gelap ke CCA. Isolat yang diduga pada media SS agar kemudian disimpan pada media *Brain Heart Infusion Agar* (BHIA) (Budiarso, 2009).

Isolat yang diperoleh dari analisis diuji sifat biokimianya. Tahapan selanjutnya dilakukan uji urea pada urea *broth*, H₂S dengan media (*Triple Sugar Iron Agar*) TSIA dan uji (*Inodole Methyl Red Voges proskauer Citrat*) IMViC. Selanjutnya dilakukan uji maltosa pada media *Phenol Red Maltosa broth* dan uji sucrose pada media *Phenol Red Sucrose*. Tiap isolat bakteri diinokulasikan pada masing-masing media dan diinkubasi pada inkubator selama 24-48jam pada suhu 35-37°C (Manos *et al.*, 2006).

Konfirmasi Biokimiawi Menggunakan API 20E

Isolat tersangka diambil sebanyak 1 ose, diinokulasikan ke dalam BHIA kemudian diinkubasi sekitar 18-24 jam dalam suhu 37°C. Kemudian inokulasi isolat tersebut pada media NaCL 0,85 % hingga setara kekeruhannya dengan media McFarland 0,5% lalu diinokulasi pada media kering API 20E Biomerieux. Kultur tersebut diamati perubahan warnanya setelah 18-24 jam, ditambahkan beberapa reagen, seperti TDA, JAMES, VP 1, VP 2, NIT 1 dan NIT 2 yang ditambahkan untuk melihat perubahan warna selama 5 menit. Dari ekspresi warna yang dihasilkan maka diidentifikasi menggunakan APIWeb 10 (Biomereoux)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses isolasi dan identifikasi bakteri enteropatogenik dikerjakan menggunakan metode *spread plate* pada medium CCA dan PCA. Hasil pengamatan terhadap jumlah dan warna koloni ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2. Pengambilan sampel air berasal dari sumber air sumur, perusahaan daerah air minum dan air minum dalam kemasan dimana penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya bakteri enteropatogenik dari sumber air ataupun air yang sudah melalui beberapa tahapan proses pengolahan. Pada sampel air sumur, jumlah koloni bakteri terbanyak ditemukan pada sampel air sumur di daerah Sedayu-Bantul $9,7 \times 10^8$ CFU/ml dibandingkan dengan sampel asal Klitren $6,5 \times 10^8$ CFU/ml. Hal ini disebabkan setiap lokasi sumur tempat pengambilan sampel di daerah Bantul berdekatan dengan septic tank jarak 2 – 3m, sehingga bakteri enteropatogenik yang umumnya terdapat pada tinja yang ditempatkan pada lubang penampungan mampu mengkontaminasi air sumur. Sedangkan, sistem pembuangan tinja manusia di Klitren dengan cara dialirkan langsung ke sungai melalui saluran pembuangan limbah rumah tangga milik warga. Berdasarkan kenampakan tipikal koloni yang tumbuh pada medium CCA menunjukkan bahwa sampel air sumur terduga mengandung cemaran bakteri patogen. Untuk koloni putih dan biru terang terduga bakteri patogen *Salmonella*, *Shigella* dan *Proteus* hal ini disebabkan karena koloni putih dan biru

terang pada media CCA positif β -glukoronidase dan negatif β -glukosidase (Gambar 1a), serta *E. coli* O157 koloni merah dan biru gelap positif β -glukoronidase dan positif β -glukosidase (Gambar 1a).

Tabel 1. Hasil enumerasi bakteri enteropatogenik pada sampel air sumur dan sampel air PDAM.

| Jenis Sampel | Kode Sampel | Media | | | | |
|------------------|-------------|------------------------|--|--|---|--|
| | | PCA | Koloni terduga enteropatogenik pada media CCA | | | |
| | | Total Bakteri (CFU/ml) | Koloni Putih Terduga Patogen <i>Salmonella</i> sp, <i>Shigella</i> sp, <i>Yersinia</i> sp | Koloni Biru Terang Terduga Patogen <i>Salmonella</i> sp, <i>Shigella</i> sp, <i>Yersinia</i> sp | Koloni Merah Terduga Patogen <i>Citrobacter</i> sp, <i>E.coli</i> , <i>Klebsiella</i> sp | Koloni Biru Gelap Terduga Patogen <i>Citrobacter</i> sp, <i>E.coli</i> , <i>Klebsiella</i> sp |
| Sampel Air Sumur | SK-1 | 2,29 x 10 ⁸ | 249 | 0 | 229 | 0 |
| | SK-2 | 3,92 x 10 ⁸ | 245 | 2 | 44 | 0 |
| | SK-3 | 3,22 x 10 ⁸ | 296 | 0 | 26 | 0 |
| | SK-4 | 6,50x 10 ⁸ | 65 | 0 | 0 | 0 |
| | SK-5 | 2,46 x 10 ⁸ | 203 | 0 | 43 | 0 |
| | SK-6 | 2,13 x 10 ⁸ | 211 | 0 | 0 | 1 |
| | SS-7 | 8,44 x 10 ⁸ | 633 | 0 | 0 | 1 |
| | SS-8 | <i>Spreader</i> | 20 | 0 | 104 | 0 |
| | SS-9 | 2,49 x 10 ⁸ | 144 | 0 | 10 | 0 |
| | SS-10 | 9,7 x 10 ⁸ | 97 | 0 | 0 | 0 |
| Sampel Air PDAM | PDAM 1 | 3,6 x 10 ⁸ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PDAM 2 | 2,39 x 10 ⁸ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PDAM 3 | 1,42 x 10 ⁸ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PDAM 4 | 1,60 x 10 ⁸ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PDAM 5 | 1,7 x 10 ⁸ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PDAM 6 | 1,70 x 10 ⁸ | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PDAM 7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | PDAM 8 | <i>Spreader</i> | 41 | 0 | 41 | 0 |
| | PDAM 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

PDAM 10 0 0 0 0 0

Ket: SK = Sumur Klitren; SS = Sumur Sedayu; PDAM = Perusahaan daerah air minum

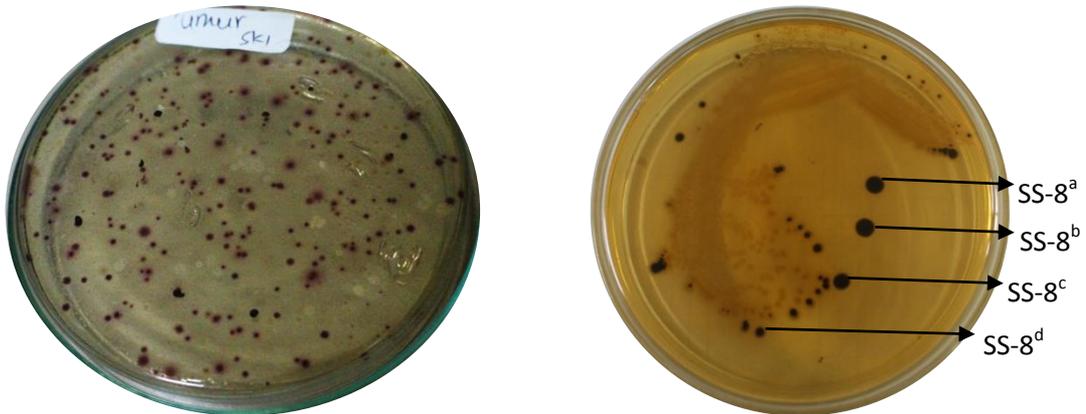
Tabel 2. Hasil enumerasi bakteri enteropatogenik pada sampel air minum dalam kemasan

| | | Media CCA | | | |
|--------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------------|------------------------|--------------------------|
| Jenis Sampel | Kode Sampel | Koloni Putih | Koloni Biru | Koloni Merah | Koloni Biru Gelap |
| | | Terduga Patogen | Terang Terduga Patogen | Terduga Patogen | Terduga Patogen |
| | | <i>Salmonella sp</i> | <i>Salmonella sp</i> | <i>Citrobacter sp</i> | <i>Citrobacter sp</i> |
| | | <i>Shigella sp</i> | <i>Shigella sp</i> | <i>E.coli</i> | <i>E.coli</i> |
| | | <i>Yersinia sp</i> | <i>Yersinia sp</i> | <i>Klebsiella sp</i> | <i>Klebsiella sp</i> |
| Sampel air minum kemasan | AMDK ₁ | 5 | - | - | - |
| | AMDK ₂ | 2 | - | - | - |
| | AMDK ₃ | 3 | - | - | - |
| | AMDK ₄ | - | - | - | - |
| | AMDK ₅ | 2 | - | - | - |
| | AMDK ₆ | 4 | - | - | - |
| | AMDK ₇ | 1 | - | - | - |
| | AMDK ₈ | 1 | - | - | - |
| | AMDK ₉ | - | - | - | 1 |
| | AMDK ₁₀ | - | - | - | - |

Ket: AMDK = Air Minum Dalam Kemasan

Kemudian, setiap tipikal koloni patogen untuk terduga *E.coli* O157-H7 ditumbuhkan dalam media McConkey agar dan Sorbitol MacConkey Agar (SMAC). Tipikal O157-H7 memberikan kenampakkan koloni *colourless*. Masing-masing tipikal koloni terduga O157-H7 di *streak* masing-masing 5 koloni. Namun dari semua sampel yang terduga patogen untuk O157 tidak ditemukan pada media SMAC dan McConkey agar. Untuk koloni terduga patogen *Salmonella*, *Shigella* dan *Proteus* ditumbuhkan pada media *selektif diferensial Salmonella Shigella agar* (SSA) masing-masing 5 koloni putih. Hasilnya ditemukan 4 tipikal yang tumbuh pada SSA (isolat SS-8^a, SS-8^b, SS-8^c, SS-8^d) asal sampel air sumur warga daerah Sedayu, (Gambar 1b) merupakan terduga kelompok *salmonella*, *shigela* dan *proteus*

memberikan ke-nampakkan koloni tipikal hitam dan memiliki zona terang, sedangkan pada media SMAC diperoleh hasil negatif pada semua koloni uji.



Gambar 1a. Karakteristik morfologi koloni bakteri pada CCA dari sampel air sumur.

Gambar 1b. Koloni bakteri enterobakter (hitam) pada media SSA.

Ket : Isolat SS-8^a, SS-8^b, SS-8^c, SS-8^d
koloni terduga *Salmonella* sp dan *Proteus* sp

Hasil enumerasi koloni bakteri pada sampel air PDAM ditemukan jumlah koloni terbanyak pada sampel air PDAM asal Godean sebanyak $3,6 \times 10^8$ CFU/ml (Tabel 2). Uji deteksi lanjutan pada media CCA diperoleh koloni warna putih pada media yang diinokulasi sampel air PDAM asal daerah Klitren (kode PDAM-8) sebanyak 41 koloni, sedangkan sampel lainnya menunjukkan hasil negatif tidak terdapat pertumbuhan koloni. Koloni-koloni tersebut diduga merupakan bakteri golongan *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus* tetapi hasil pertumbuhan pada media selektif SSA menunjukkan hasil negatif. Oleh karena itu, hasil penelitian ini membuktikan bahwa sampel air PDAM tidak tercemar enteropatogenik. Hal ini disebabkan karena pada proses pengolahan air PDAM melalui proses pemberian desinfektan kaporit ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$) untuk membunuh bakteri.

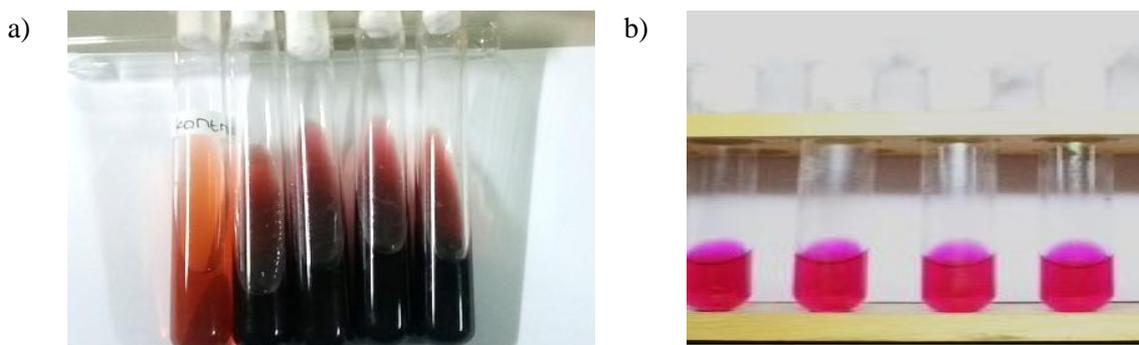
Khusus untuk sampel air minum dalam kemasan menggunakan metode membran filter. Metode ini dipilih berdasarkan menurut standar Menteri Kesehatan Republik Indonesia 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang Persyaratan Kualitas Air minum, total bakteri coliform dengan jumlah maksimum yang ditetapkan adalah 0 per 100 ml air. Selanjutnya 100 ml sampel air minum dalam kemasan di filterisasi menggunakan membran pori dengan ukuran lubang kurang dari $0,2 \mu\text{m}$ sehingga koloni enteropatogenik tertahan dalam membran dan memisahkan untuk partikel tersuspensi dari cairan sampel air minum dalam kemasan. Hasil pertumbuhan pada media CCA menunjukkan bahwa terdapat bakteri terduga, *Salmonella*,

Shigella dan *Proteus* koloni putih/biru terang pada 70% sampel uji, sedangkan 10% sampel mengandung terduga bakteri golongan *E.coli* dan *Klebsiella* koloni merah/biru gelap. Hasil uji lanjutan pada media SSA menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni terduga *Salmonella*, *Shigella* dan *Proteus*, sedangkan hasil uji lanjutan pada media CCA untuk koloni merah/biru gelap diperoleh dua tipikal biru gelap. Hasil pemurnian disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Koloni biru gelap pada media CCA setelah dilakukan pemurnian

Isolat asal sampel air sumur yang telah diketahui identitasnya melalui uji pada media selektif diferensial SSA kemudian diuji lanjut dengan uji TSIA dan Urea. Media TSIA digunakan untuk mengetahui tipikal *Salmonella* sp, dan *Proteus* sp. Hasil TSIA yang di dapat menunjukkan terduga kelompok *Salmonella*, dan *Proteus* karena media berwarna hitam dan adanya H_2S yang terbentuk setelah diinkubasi 24jam. H_2S yang dihasilkan merupakan hasil reduksi dari asam amino yang mengandung sulfur, H_2S tersebut akan bereaksi dengan Fe dalam media yang kemudian menjadi senyawa FeS berwarna hitam (Talaro et al. 2002). Uji urea menunjukkan hasil positif *Proteus* sp ditandai dengan perubahan warna media dari kuning menjadi merah muda. Hal ini terjadi karena *Proteus* sp menghidrolisis senyawa urea dan menghasilkan amonia; (Gambar 3b)



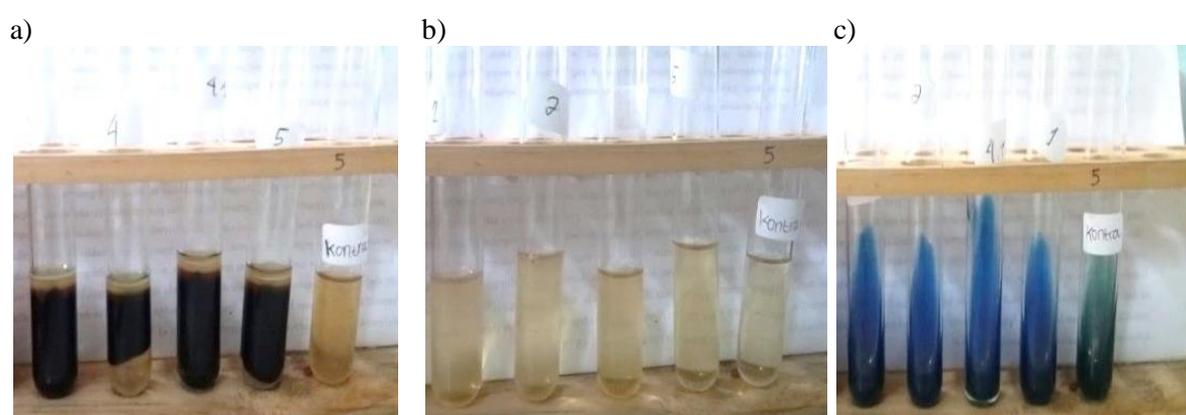
Gambar 3. Uji TSIA koleksi *Proteus* sp dari sampel air sumur (a). Uji urea *Proteus* sp ditandai dengan adanya perubahan warna medium dari sampel air sumur (b)

Selanjutnya, 4 isolat terduga *Proteus sp.* asal sampel air sumur tersebut melalui uji biokimia lanjutan (Tabel 3,4,5). Hasil uji biokimiawi menunjukkan bahwa terdapat 2 isolat (SS8.4 dan SS84.1) positif terduga *Proteus sp.* karena dapat memfermentasi gula jenis sukrosa dan maltosa (perubahan warna merah menjadi kuning). *Proteus sp* merupakan bakteri dengan maltosa dan sukrosa positif (Manos *et al.*, 2006). Hasil uji VP menunjukkan semua sampel tidak menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda setelah ditambah reagen *barrit's*. Hal tersebut menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak melakukan fermentasi glukosa dan tidak terjadi pembentukan asetil metil karbinol setelah ditambahkan reagen *barrit's* (Gambar 4b). Pada media indole asal sampel air sumur diperoleh hasil negatif semua isolat yang ditandai dengan tidak terbentuknya lapisan warna merah dan memproduksi H₂S. Pada media sitrat diperoleh hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru. Hal tersebut menunjukkan bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai salah satu sumber karbon (Gambar 4c). Pada uji fermentasi karbohidrat dan uji biokimia didapat 2 isolat (SS-8^a 4 dan SS-8^b 4.1 asal sampel air sumur warga daerah Sedayu) yang memiliki sifat biokimia *Proteus sp.*

Tabel 3. Hasil uji biokimia sampel air sumur

| Isolat | Sukrosa | Maltosa | VP | Indole | Sitrat |
|-----------------------|---------|---------|----|--------|--------|
| SS 8 ^d | + | - | - | - | + |
| SS 8 ^c 2 | + | - | - | - | + |
| SS 8 ^a 4 | + | + | - | - | + |
| SS 8 ^b 4.1 | + | + | - | - | + |

Ket : SS : sumur sedayu



Gambar 4. Hasil uji indole terduga *Proteus sp* dari sampel air sumur (a). Hasil pengujian VP terduga *Proteus sp* sampel air sumur (b). Hasil pengujian sitrat terduga *Proteus sp* sampel air sumur (c).

Pada sampel air minum dalam kemasan diperoleh koloni biru gelap terduga *E.coli*, *Citrobacter*, dan *Klebsiella* sp. Namun, setelah dilakukan uji biokimia lanjutan (IMViC test) terhadap masing-masing koloni yang diperoleh, diketahui bahwa koloni tersebut merupakan bakteri golongan *Klebsiella* sp karena menunjukkan hasil indole negatif dan VP serta MR positif. Pada media indole sampel asal air minum dalam kemasan (AMDK) diperoleh 3 isolat dengan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada saat penambahan reagen kovacs yang akan menghasilkan cincin merah pada permukaan media karena indol akan bereaksi dengan *dimetilaminobenzaldehid* sehingga membentuk *resindol* yang berwarna merah. *Klebsiella* sp merupakan bakteri dengan indol negatif (Brooks *et al.*, 2007). Hasil uji VP menunjukkan terdapat satu sampel yang positif yaitu isolat AMDK 2 adanya perubahan warna menjadi merah muda setelah ditambah reagen *barrit's*. Hal tersebut menunjukkan bakteri mampu memproduksi dan mengelola asam dan melakukan fermentasi glukosa, memperlihatkan kemampuan sistem *buffer* dan menentukan bakteri yang menghasilkan produk netral *asetil metal karbinol* atau *aseton* hasil fermentasi glukosa. *Klebsiella* sp menghasilkan warna merah yang memberikan hasil positif terhadap reaksi VP (Brooks *et al.*, 2007).

Berdasarkan hasil uji biokimia lanjutan untuk isolat asal sampel air minum dalam kemasan menunjukkan bahwa terdapat 2 isolat positif terduga *Klebsiella* sp, yakni isolat AMDK 2 dan AMDK 2.1.

Tabel 4. Hasil uji biokimia sampel air minum dalam kemasan

| Isolat | Sim Indole | MR | VP |
|----------|------------|----|----|
| AMDK 2 | - | + | + |
| AMDK 2.1 | - | + | - |
| AMDK 3 | - | + | - |

Ket : AMDK : air minum dalam kemasan

Isolat yang telah diketahui identitasnya melalui uji biokimia di lakukan uji konfirmasi menggunakan API 20E. API 20E Kit merupakan sistem identifikasi dari Enterobacteriaceae dan bakteri gram negatif yang menggunakan 21 miniatur standar dari tes biokimia setelah inkubasi 18-24 jam 35 – 37°C.

Tabel 5. Hasil identifikasi bakteri enteropatogenik dengan API 20E

| No | Kode Isolat | %ID | Hasil Identifikasi API Web |
|----|-------------|-------|-----------------------------|
| 1 | SS 8.4 | 99,9% | <i>Proteus mirabilis</i> |
| 2 | SS 8.4.1 | 99,2% | <i>Proteus mirabilis</i> |
| 3 | AMDK 2 | 98,5% | <i>Klebsiella pneumonia</i> |

4 AMDK 2.1

98,5%

Klebsiella pneumonia

Ket : SS : Sumur Sedayu AMDK : air minum dalam kemasan

Hasil isolat asal sampel air sumur yang diuji menggunakan API 20E, teridentifikasi 2 isolat *Proteus mirabilis* %ID sebesar 99,9 % isolat SS8.4 dan 99,2 % SS8.4.1, hal ini dikuatkan dengan produksi H₂S dan uji urea yang memberikan hasil positif. Hal tersebut menunjukkan bakteri memproduksi hidrogen sulfida pada media H₂S sehingga diperoleh hasil positif, dan pada urea bakteri menghidrolisis senyawa urea dan menghasilkan amonia. Selain itu pada uji ONPG menunjukkan hasil negatif tidak adanya perubahan warna medium menjadi kuning hal tersebut bakteri tidak mampu melakukan fermentasi karbohidrat menjadi asam dalam keadaan aerob, uji sitrat menunjukkan hasil positif yaitu bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon, maka asam akan hilang sehingga terjadi peningkatan pH dan mengubah warna medium menjadi biru. Penambahan reagen kovacs pada uji IND, reaksi negatif tidak adanya perubahan warna (*red ring*) hal tersebut bakteri tidak memproduksi indol dari triptofan dengan enzim triptofanase. Pada medium GLU untuk reduksi nitrat, dilakukan penambahan reagen nitrat 1 dan nitrat 2 setelah dilakukan penambahan reagen diperoleh hasil positif pada kedua isolat 8.4 dan isolat 8.4.1 ditunjukkan adanya gelembung pertanda bahwa terjadi reduksi nitrat menjadi nitrogen (N₂). Medium MAN-ARA diperoleh hasil negatif pada semua uji isolat 8.4 hal tersebut menandakan bahwa bakteri tidak mampu memfermentasikan glukosa. Sedangkan pada isolat 8.4.1 pada medium SAC diperoleh hasil positif hal ini menunjukkan bakteri mampu memfermentasi sukrosa sehingga adanya suasana asam.



PT. Enseval Medika Prima - Jakarta 

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE DATE 9/1/17

COMMENT

VERY GOOD IDENTIFICATION

| | | | | | |
|---------|-------------------|--|--|--|--|
| Strip | API 20 E V5.0 | | | | |
| Profile | 0 7 3 5 0 0 0 5 7 | | | | |
| Note | | | | | |

| Significant taxa | % ID | T | Tests against | | | |
|--------------------------|------|------|---------------|---------|--|--|
| <i>Proteus mirabilis</i> | 99.9 | 0.57 | VP 1% | GEL 82% | | |

| Next taxon | % ID | T | Tests against | | | |
|-------------------------------|------|-----|---------------|---------|---------|-------|
| <i>Proteus vulgaris</i> group | 0.1 | 0.0 | ODC 1% | CIT 12% | IND 92% | VP 1% |
| | | | SAC 89% | | | |

Gambar 5. Hasil uji konfirmasi isolat 8.4 *Proteus mirabilis* dengan API 20E



PT. Enseval Medika Prima - Jakarta

API 20 E V5.0 [Instructions](#) [Color check](#) [Rese](#)

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------|-----|-----|-----|-----|------------------|-----|-----|-----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 |
| ONPG | ADH | LDC | ODC | CIT | H ₂ S | URE | TDA | IND | VP | GEL | GLU | MAN | INO | SOR | RHA | SAC | MEL | AMY | ARA | OX |
| 0 | | | 7 | | | 3 | | | 7 | | | 0 | | | 2 | | | 0 | | |

| | | | | | |
|-----------------|----------------|-----|-----|------|------|
| 1 | 2 | 4 | 1 | 2 | 4 |
| NO ₂ | N ₂ | MOB | McC | OF-O | OF-F |
| 5 | | | 7 | | |

[Confirm](#)

PT. Enseval Medika Prima - Jakarta

API 20 E V5.0 [Printout](#) [Export](#) [New test](#) [Modify](#)

REFERENCE: DATE: 8/31/17

COMMENT:

GOOD IDENTIFICATION

| | | | | | |
|---------|-------------------|--|--|--|--|
| Strip | API 20 E V5.0 | | | | |
| Profile | 0 7 3 7 0 2 0 5 7 | | | | |
| Note | | | | | |

| Significant taxa | % ID | T | Tests against | | | | | |
|-------------------|------|------|---------------|----|-----|----|--|--|
| Proteus mirabilis | 99.2 | 0.35 | VP | 1% | SAC | 1% | | |

| Next taxon | % ID | T | Tests against | | | | | | | |
|------------------------|------|-----|---------------|----|-----|-----|-----|-----|----|----|
| Proteus vulgaris group | 0.7 | 0.0 | ODC | 1% | CIT | 12% | IND | 92% | VP | 1% |

Gambar 6. Hasil uji konfirmasi isolat 8.4.1 *Proteus mirabilis* dengan API 20E

Uji API20E selanjutnya adalah 2 isolat asal air minum dalam kemasan. Berdasarkan identifikasi API20E diperoleh %ID 98,5% isolat AMDK 2 dan 98.0% isolat AMDK 2.1 *Klebsiella pneumoniae*. Hal tersebut dikuatkan dengan diperolehnya IND negatif dan VP positif. *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri dengan indol negatif dan VP positif (Brooks *et al.*, 2008). Selain itu pada uji ONPG pada *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan hasil positif pada kedua isolat dengan berubahnya medium menjadi kuning karena adanya fermentasi karbohidrat menjadi asam dalam keadaan aerob, uji URE menunjukkan hasil positif yaitu bakteri mampu menghidrolisis senyawa urea dan menghasilkan ammonia. Pada medium GLU hasil positif pada kedua isolat AMDK 2 dan isolat AMDK 2.1 ditunjukkan adanya gelembung pertanda bahwa terjadi reduksi nitrat menjadi nitrogen (N₂). Medium

MAN-MEL diperoleh hasil positif pada semua kedua isolat hal tersebut menandakan bahwa bakteri mampu memfermentasikan glukosa. Sedangkan pada medium AMY-ARA diperoleh hasil positif pada isolat AMDK 2.1. Hal ini menunjukkan bakteri mampu memfermentasi amygdalin dan arabinosa, sedangkan pada isolat AMDK 2 diperoleh hasil negatif.



PT. Enseval Medika Prima - Jakarta **apiweb™**

API 20 E V5.0 Instructions Color check Reset

ONPG ADH LDC ODC CIT H₂S URE TDA IND VP GEL GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA OX

NO₂ N₂ MOB MeC OF-O OF-F

Confirm

PT. Enseval Medika Prima - Jakarta **apiweb™**

API 20 E V5.0 Printout Export New test Modify

REFERENCE DATE 9/10/17

COMMENT

ACCEPTABLE IDENTIFICATION

| | | | | | |
|--|---|------|---------------|---------|-----------------|
| Strip | API 20 E V5.0 | | | | |
| Profile | 1 0 1 5 7 7 0 1 7 | | | | |
| Note | POSSIBILITY OF <i>Raoultella planticola</i> | | | | |
| Significant taxa | % ID | T | Tests against | | |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i> 1 | 96.5 | 0.24 | CIT 86% | AMY 99% | ARA 99% |
| Next taxon | % ID | T | Tests against | | |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp <i>pneumoniae</i> 2 | 0.9 | 0.0 | LDC 94% | URE 1% | AMY 99% ARA 99% |

Gambar 7. Hasil uji konfirmasi isolat AMDK 2 *Klebsiella pneumonia* dengan API 20E



PT. Enseval Medika Prima - Jakarta **apiweb™**

API 20 E V5.0 Instructions Color check Reset

ONPG ADH LDC ODC CIT H₂S URE TDA IND VP GEL GLU MAN INO SOR RHA SAC MEL AMY ARA OX

NO₂ N₂ MOB MeC OF-O OF-F

Confirm

The screenshot shows the API 20 E V5.0 software interface. At the top, it says 'PT. Enseval Medika Prima - Jakarta' and 'apiweb'. Below that, there are buttons for 'Printout', 'Export', 'New test', and 'Modify'. The main area has fields for 'REFERENCE', 'DATE' (9/10/17), and 'COMMENT'. Below these is a 'GOOD IDENTIFICATION' section with a table:

| Strip | API 20 E V5.0 |
|---------|--------------------------------------|
| Profile | 1 0 1 5 7 3 1 7 |
| Note | POSSIBILITY OF Raoultella planticola |

Below this is a table for 'Significant taxa':

| Significant taxa | % ID | T | Tests against |
|--|------|-----|---------------|
| Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae 1 | 98.0 | 0.8 | CIT 86% |

Below that is a table for 'Next taxon':

| Next taxon | % ID | T | Tests against |
|--------------------|------|------|-----------------------------|
| Klebsiella oxytoca | 0.9 | 0.47 | LDC 80% CIT 89% IND 99% |

Gambar 8. Hasil uji konfirmasi isolat AMDK 2 *Klebsiella pneumonia* dengan API 20E

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini, di antara air sumur dan air minum dalam kemasan (AMDK) terdeteksi bakteri enteropatogenik. Dengan terdeteksinya bakteri enteropatogenik seperti *P.mirabilis* dan *K.pneumonia* perlu ditingkatkan kewaspadaan dan perbaiki mutu kualitas air minum. *Proteus mirabilis* diketahui dapat menyebabkan infeksi saluran kencing. *Proteus mirabilis* mampu menghidrolisis urease dalam jumlah besar. Enzim urease yang menghidrolisis urea menjadi amonia (NH₃) menyebabkan urin bertambah basa. Enzim ini menjadi suatu faktor virulen pada *P.mirabilis* (Wang *et al.*, 2010). Selain itu *P.mirabilis* memiliki sitotoksik hemolisin HpmA. Hemolisin merupakan enzim ekstraseluler yang bersifat toksik. Toksik ini merupakan bahan yang menghancurkan sel darah merah dan melepaskan hemoglobin (Swihart dan Welch, 1990). Sedangkan penyakit yang disebabkan oleh *K.pneumonia* adalah bronkopneumoniae dan pneumonia. Pneumonia yang disebabkan oleh bakteri ini dapat menimbulkan bronkitis kronik, dan infeksi sekunder (Jawetz *et al.*, 2001).

KESIMPULAN

Bakteri enteropatogenik ditemukan pada sampel air sumur penduduk di Sedayu dan air minum dalam kemasan (AMDK). Bakteri tersebut diidentifikasi sebagai *Proteus mirabilis* dan *Klebsiella pneumonia*. *Proteus mirabilis* ditemukan pada sampel air sumur, *Klebsiella pneumonia* ditemukan pada sampel air minum dalam kemasan, sedangkan sampel dari perusahaan daerah air minum (PDAM) diketahui bebas dari bakteri enteropatogenik.

DAFTAR PUSTAKA

- Brooks GF, Janet SB., Stepens, AM. 2007. Mikrobiologi Kedokteran. Edisi 23. Alih bahasa Hartanto *et al.* Jakarta : EGC.
- Budiarso, T.Y and Belo, MJX. 2009 Deteksi Cemaran *Salmonella* sp pada Daging Ayam yang dijual di Pasar Tradisional di Wilayah Kota Yogyakarta, 245–251; prosiding seminar nasional penelitian, pendidikan dan penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, 16 Mei 2009. h.B-246

- Cabral JPS. 2010 Water microbiology, bacterial pathogens and water, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(10) : 3657–3703. doi: 10.3390/ijerph7103657.
- Centers For Disease Control and Prevention/ 20132013 Emergency Management Program Activities — Worldwide. 62(35). 2011–2012.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg's. 2001 Medical Microbiology, ed 20. Jakarta: Penerbit Salemba Medika; h. 224-227
- Manos J and Belas R. 2006. The Genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella*. Chapter 3.3.12, 10.1007/0-387-30746-x_12
- O'Hara CMO., Brenner FW., and Miller JM. 2000 Classification , Identification , and Clinical Significance of *Proteus* , *Providencia* , and *Morganella*. *Journal Clinical Microbiology Reviews*, 13(4) 534–546.
- Swihartt KG., and Welch RA. 1990 The HpmA Hemolysin Is More Common than HlyA, *Infection and Microbiology*, among *Proteus* Isolates, 58(6):1853–1860.
- Talaro KP, Talaro A 2000. Drugs, microbes, host-The elements of chemotherapy. In: *Foundations in Microbiology*. 4th ed. McGraw-Hill, New York, 348-379.
- Turner KM., Restaino L. and Frampton EW. 2000. Efficacy of chromocult coliform agar for coliform and *Escherichia coli* detection in foods. *Journal of Food Protection*, 63(4) : 539–541.