



Original Research Articles

Identifikasi *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada Air Kolam Renang Candi Pari

Lukmanul Khakim¹, Chylen Setiyo Rini^{2*}

^{1,2}D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Jl.Raya Rame Pilang No. 4 Wonoayu Sidoarjo, Jawa Timur, Indonesia, 61261

Article history: Submitted: 18 Juni 2018; accepted: 20 Oktober 2018; published: 31 Desember 2018

ABSTRAK

Pengolahan air kolam renang yang kurang tepat bisa menyebabkan kontaminasi air oleh bakteri. Bakteri yang sering kali dijumpai dari air adalah bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.*, kedua bakteri tersebut mampu menginfeksi pengguna kolam renang, hal tersebut akan menyebabkan diare dan demam tinggi. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui adanya cemaran bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Salmonella sp.* yang terdapat pada air kolam renang Candi Pari. Rancangan penelitian ini menggunakan rancangan developmental, dengan teknik pengambilan sampel adalah *purposive sampling*. Untuk mengetahui adanya bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp* pada air kolam renang menggunakan uji penanaman sampel pada media selektif EMB dan SSA, uji pewarnaan gram dan uji biokimia. Hasil dari penelitian ini adalah adanya pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada 1 ml sampel yang telah diinokulasikan pada media selektif. Simpulan dari penelitian ini adalah dari 2 sampel yang diambil, keduanya positif adanya bakteri *Escherichia coli* dan bakteri *Salmonella sp.*

Kata kunci: air kolam renang; *Escherichia coli*; *Salmonella sp.*

Identification of *Escherichia coli* and *Salmonella sp.* on Candi Pari Swimming Pool Water

ABSTRACT

Incorrect treatment of swimming pool can contaminate the water with bacteria. Common bacteria in water are Escherichia coli and Salmonella sp, both of which may infect the users of the swimming pool. Infection causes diarrhea and high fever on humans. The aim of this research is to investigate the contamination of Escherichia coli and Salmonella sp at Candi pari swimming pool. Research design used in this research is the development of EMB and SSA selective medium, gram coloring test, and biochemical test to confirm the presence of Escherichia coli and Salmonella sp. Results from this research is the growth of Escherichia coli and Salmonella sp from 1 ml sample which were inoculated on selective medium. Conclusion from this research is from 2 samples taken from Candi Pari swimming pool, both are positively contaminated with Escherichia coli and Salmonella sp.

* Corresponding author.

e-mail: chylensetiyorini@umsida.ac.id

Peer reviewed under responsibility of Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

© 2018 Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, All right reserved, This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

Keyword: *swimming pool water; Escherichia coli; Salmonella sp.*

1. PENDAHULUAN

Air adalah salah satu sumber daya alam yang dapat diperbarui, air memiliki beragam manfaat salah satunya untuk kelangsungan hidup bagi manusia, hewan, dan tumbuhan. Keperluan air sehari-hari bisa dirasakan cukup tinggi pada taraf hidup yang tinggi pula dan begitu sebaliknya (Effendi, 2003). Beragam manfaat air yang digunakan untuk kelangsungan hidup manusia, salah satunya untuk keperluan kolam renang. Persyaratan penggunaan air bersih pada kolam renang menjadikan air kolam renang harus memenuhi unsur-unsur yang disyaratkan. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan ada 3 unsur persyaratan dari air kolam renang, antara lain unsur fisika, unsur kimia dan unsur mikrobiologi (Depkes, 1999).

Upaya yang dilakukan untuk membunuh mikroorganisme patogen dalam air kolam renang adalah dengan desinfeksi menggunakan metode klorinasi. Penggunaan klorin yang paling sering dipakai dalam proses klorinasi air kolam renang adalah kaporit ($\text{Ca}(\text{OCl})_2$). Penggunaan kaporit sebagai desinfektan harus sesuai dengan batas aman, sebab dalam konsentrasi yang kurang akan menyebabkan mikroorganisme pada air tidak terdesinfeksi dengan baik, sedangkan dalam konsentrasi yang berlebih kaporit akan meninggalkan sisa klor yang tinggi serta dapat menimbulkan dampak buruk bagi kesehatan (Cita & Adriani, 2013). Pada indikator pemeriksaan air, air dalam golongan bersih dengan penggunaan sebagai kolam renang mengandung 0/100 ml bakteri *Escherichia coli*, yang artinya dalam 100 ml air tidak terdapat bakteri *Escherichia coli* (Depkes RI, 2010). Dengan dibuatnya aturan tersebut diharapkan pengelola kolam renang beracuan dalam aturan yang sudah dibuat.

Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* merupakan bakteri indikator pada air, makanan, dan lain sebagainya yang tergolong bakteri dengan sifat gram negatif. Sejak diketahui adanya penyebaran bakteri tersebut pada semua individu, analisa bakteriologi yang memiliki hasil positif pada bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada jumlah tertentu dapat digunakan sebagai indikator adanya bakteri patogen pada air (Suriawira, 2005). Pemanfaatan lahan untuk kolam renang pada daerah dataran rendah, memungkinkan adanya kontaminasi air pada mikroorganisme. Disebabkan memiliki letak yang berdekatan dengan sungai dan terletak pada dataran rendah, hal tersebut yang mendasari penulis melakukan penelitian dengan sampel air kolam renang Candi Pari yang

memiliki letak di daerah dataran rendah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya cemaran bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada air kolam renang Candi Pari.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Sidoarjo. Penelitian dilakukan pada bulan Juli s.d. September 2017.

Alat yang digunakan pada penelitian adalah: tabung reaksi, Erlenmeyer, cawan petri, ose loop, timbangan analitik, botol sampel, kertas saring, pipet maat, blub, batang pengaduk, bunsen, kaki tigas, kapas, autoklaf, tabung durham, inkubator, mikroskop, kertas saring.

Bahan yang digunakan adalah media media EMB (*Eosin Methylene Blue*), SSA (*Salmonella Shigella Agar*), media IMVIC (Indol, *methyl red*, voges-Proskauer, dan citrat), SIM (*sulfide indol motility*), media TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), kristal violet, lugol, safranin, alkohol 70%, etanol 95%, aquades, media NA, Phenol red, Kovac's, Alfanaftol dan KOH, kapas, spritus, minyak imersi.

Penelitian ini menggunakan rancangan developmental yang mempelajari karakteristik individu dan bagaimana karakteristik itu berubah dalam pertumbuhannya. Proses pengambilan sampel yang digunakan adalah model *purposive sampling* yakni peneliti menentukan waktu pengambilan sampel dengan cara menetapkan ciri ciri khusus yang sesuai dengan tujuan penelitian yang dilakukan.

Sampel yang digunakan diambil sebanyak 1 ml dari tiap masing-masing sampel. Kemudian diinokulasi pada media NA dan media selektif EMB untuk *Echerichia coli* dan SSA untuk *Salmonella sp.* secara *poured plate* kedalam cawan petri dengan pengulangan sampai dengan 3 kali. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah itu dilakukan pemurnian pada media NA miring untuk mendapatkan koloni tunggal. Target pemurnian adalah setiap koloni yang diduga merupakan *Salmonella* dan *Echerichia coli*.

Permurnian bakteri dengan menggunakan teknik penggoresan pada media NA miring. Target pemurnian adalah koloni yang memiliki morfologi koloni berbeda, dan termasuk kedalam bakteri gram negatif. Koloni bakteri diinokulasi pada media selektif dan menggoreskan dengan metode *slant* (miring) dan *deep* (tusuk) diinokulumkan pada pemurnian isolat bakteri pada cawan petri pada cawan petri maupun tabung reaksi. Kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 28-48 jam. Pengamatan makroskopi pada

medium pertumbuhan bakteri media selektif dalam cawan petri meliputi pigmentasi, dan bentuk koloni, tepi koloni dan elevensi. Pengamatan mikroskopi koloni, meliputi: pembuatan preparat olesan bakteri dan pengecatan gram. Dilanjutkan uji biokimia, yaitu uji motilitas, uji fermentasi gula H₂S dan gas dengan TSIA, uji indol, uji MR-VP (*Methyl Red-Voges's proskauer*) dan uji sitrat.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil isolasi dari sampel air kolam renang pada media EMB dan SSA yang sudah melalui proses inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C maka didapatkan hasil pada Gambar 1. Dari penanaman secara *pour plate* hasil menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri pada media. Hasil pengamatan secara makroskopi bisa dilihat pada Tabel 1. Pada media EMB digunakan untuk proses isolasi dan identifikasi pada bakteri enterik atau Coliform. Bakteri yang diinokulasikan pada media EMB menghasilkan koloni dengan warna hijau metalik yang merupakan bakteri *Escherichia coli*, jika memiliki warna pink maka merupakan bakteri *Klebsiella sp* dan *Enterobacter aerogneses* (Brooks *et al.*, 2013).

Menurut Brooks *et al* (2013) bahwa media EMB mengandung sejumlah laktosa sehingga dapat membedakan golongan bakteri dengan proses fermentasi laktosa, bakteri yang mampu memfermentasi laktosa salah satunya adalah bakteri *Escherichia coli*. Bakteri tersebut mampu memfermentasi laktosa dengan cepat dan memproduksi banyak asam sehingga mampu menghasilkan warna koloni hijau metalik.

Pada keseluruhan sampel dengan pengulangan 3 kali tersebut dilakukan penumbuhan pada media selektif EMB, memiliki koloni yang bulat dengan permukaan yang cembung dan halus dengan tepian rata, dan memiliki warna hijau metalik, hal ini didukung oleh penelitian sebelumnya bahwa pada media EMB diperoleh hasil terdapat 4 dari 5 sampel makanan mengandung *Escherichia coli* dengan koloni hijau kilap logam sebesar 80% (Romadhon, 2016).

Berdasarkan dari penelitian yang dilakukan sampel air kolam renang terdapat bakteri *Salmonella* pada penumbuhan dimedia selektif SSA. Dengan ciri makroskopi memiliki bentuk bulat dengan permukaan rata, memiliki warna cerah transparan dengan inti hitam pada bagian tengah atau tidak, dan mampu memproduksi H₂S dengan terbentuknya warna hitam. Pada media selektif sebagai media pertumbuhannya yang telah diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C ciri koloni yang tumbuh adalah tak berwarna sampai merah muda dan memiliki warna bening sampai buram dan bintik hitam dibagian

tengah (Engelkirk & Duben, 2008). Adanya warna merah muda pada isolat dikarenakan adanya kelompok Coliform lain yang tumbuh, karena koloni mikroba pada alam jarang sekali ditemukan dalam bentuk tunggal atau dalam satu jenis, melainkan dalam bentuk campuran (Pelczar & Chan, 2007).

Hasil yang diperoleh memiliki kesamaan pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Zahrotu Romadhon pada tahun 2016 didapatkan hasil bahwa setiap sampel makanan terdapat bakteri *Salmonella sp.* berjumlah 2 dari 5 sampel dengan koloni putih dengan titik hitam sebesar 40.

Pada penelitian ini bakteri yang sudah di isolasi pada media EMB dan SSA, maka dapat diketahui hasil bakteri tersebut adalah *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* dengan melihat pertumbuhan bakteri pada media, selanjutnya dilakukan proses pewarnaan gram untuk mengetahui sifat dan morfologi bakteri. Hasil perwarnaan dapat dilihat pada Gambar 2, sedangkan hasil pengamatan preparat setelah pewarnaan Gram disajikan pada Tabel 3 dan 4. Pada Tabel 3 dapat diperoleh hasil bahwa bakteri *Escherichia coli* berbentuk basil, berwarna merah, dan bersifat gram negatif, sedangkan pada Tabel 4 bakteri *Salmonella sp.* berbentuk batang atau bacil, berwarna merah dan bersifat Gram negatif (bakteri berwarna merah).

Uji biokimia dilakukan untuk mengetahui sifat metabolisme dari koloni bakteri yang tumbuh di media EMB dan SSA dengan melihat kemampuan pada bakteri dalam memfermentasi karbohidrat, menghasilkan H₂S, menghasilkan gas, memproduksi asam, dan lain lain. Hasil uji biokimia pada media EMB dan SSA ada pada Tabel 5.

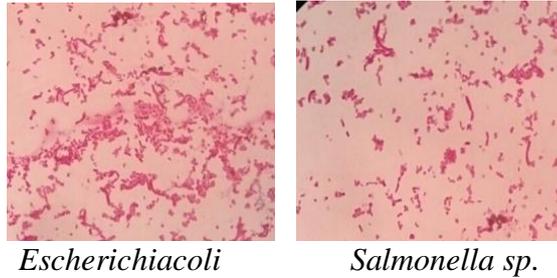
Berdasarkan Tabel 5 pada Uji TSIA didapatkan hasil, pada bagian miring media (*slant*) dan tusukan pada media (*buut*) media berwarna kuning bersifat asam (A/A), menunjukkan bakteri mampu memfermentasi senyawa asam seperti glukosa dan laktosa. Koloni yang tumbuh seperti bercak-bercak warna putih dipermukaan media pada bagian yang miring. Pada uji indol didapatkan hasil pada permukaan medianya berubah menjadi warna merah setelah diberikan tetesan reagen kovaks, hal tersebut menunjukkan hasil positif, Pada bagian dasar atau bagian bawah memiliki warna yang transparan. Pada uji motilitas Koloni yang sebelumnya ditusukan panjang kebawah pada media akan menghasilkan warna putih dan sebagian dari beberapa isolat menghasilkan warna hitam dalam jumlah yang cukup sedikit, sehingga hal tersebut menunjukkan hasil positif pada uji motilitas. Uji MR- VP didapatkan adanya perubahan warna merah pada media MR setelah pemberian 4 tetesan reagen indikator *metyl red*, hal tersebut menunjukkan hasil positif.

Dan menunjukkan hasil negatif pada VP karena, media tidak ada perubahan warna setelah dilakukan penetasan 10:20 reagen barrit A dan barrit B (warna kuning). Pada uji sitrat *Escherichia coli* menunjukkan hasil negatif, karena pada media tidak ada perubahan (tetap warna hijau), hal tersebut menunjukkan bakteri tidak menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya.

Dari Tabel 6 dapat diuraikan pada hasil Uji TSIA menunjukkan hasil positif, yang mampu memfermentasi glukosa dan mampu memproduksi H_2S , Pada bagian miring media (*slant*) pada permukaanya berubah menjadi warna merah, hal tersebut menunjukkan sifat alkalis (K), Pada tusukan, media warna kuning menunjukkan senyawa glukosa bersifat asam (A), dan mampu memproduksi H_2S yang memiliki warna hitam, dan mampu menghasilkan gas sehingga bagian tengah media membentuk gelembung seperti rongga kosong. Dari uji Indol yang didapatkan adalah negatif karena tidak ada perubahan warna pada permukaan media setelah penambahan reagen dan hasil indol menghasilkan H_2S berwarna hitam pada bagian bawah. Pada uji Motilitas hasil yang didapat adalah positif karena koloni yang ditusukkan mampu menyebar diseluruh media, adanya warna hitam pada bagian dasar dan sedikit ada warna putih pada permukaan media. Dari uji MR-VP didapatkan hasil adanya warna merah pada media MR setelah pemberian 4 tetes indikator *metylen reddan* hal tersebut menunjukkan hasil positif, Pada uji VP menunjukkan hasil negatif karena tidak ada perubahan warna pada media setelah penambahan 10:20 reagen alfanofitol dan KoH. Pada uji sitrat menunjukkan hasil positif karena pada media adanya perubahan warna dari hijau menjadi biru.



Gambar 1. Hasil pertumbuhan sampel air kolam renang dari media EMB dan SSA



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram pada mikroskop dengan perbesaran 100x

Tabel 1. Hasil Pengamatan Makroskopi Media EMB

Titik sampel	Pengulangan	Morfologi koloni			
		Bentuk	Tepi	Elevensi	Warna
Sumur 1	1	Round	Smooth	Convex	Hijau metalik
	2	Round	Smooth	Convex smooth	Hijau metalik
	3	Round	Smooth	Convex	Hijau metalik
Sumur 2	1	Round	Smooth	Convex	Hijau metalik
	2	Round	Smooth	Convex	Hijau metalik
	3	Round	Smooth	Convex Smooth	Hijau metalik

Tabel 2. Hasil Pengamatan Makroskopi Media SSA

Titik sampel	Pengulangan	Morfologi koloni			
		Bentuk	Tepi	Elevensi	Warna
Sumur 1	1	Round	Smooth	Convex, smooth	Cerah transparan
	2	Round	Smooth	Convex	Cerah transparan berinti hitam
	3	Round	Smooth	Convex	Cerah transparan
Sumur 2	1	Round	Smooth	Convex	Cerah transparan
	2	Round	Smooth	Convex	Cerah transparan
	3	Round	Smooth	Convex	Hitam

Tabel 3. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram *Escherichia coli*

Titik pengambilan sampel	Pengulangan	Bentuk Bakteri	Jenis Bkateri
Sumur 1	1	Bacil	Gram Negatif
	2	Bacil	Gram Negatif
	3	Bacil	Gram Negatif
Sumur 2	1	Bacil	Gram Negatif
	2	Bacil	Gram Negatif
	3	Bacil	Gram Negatif

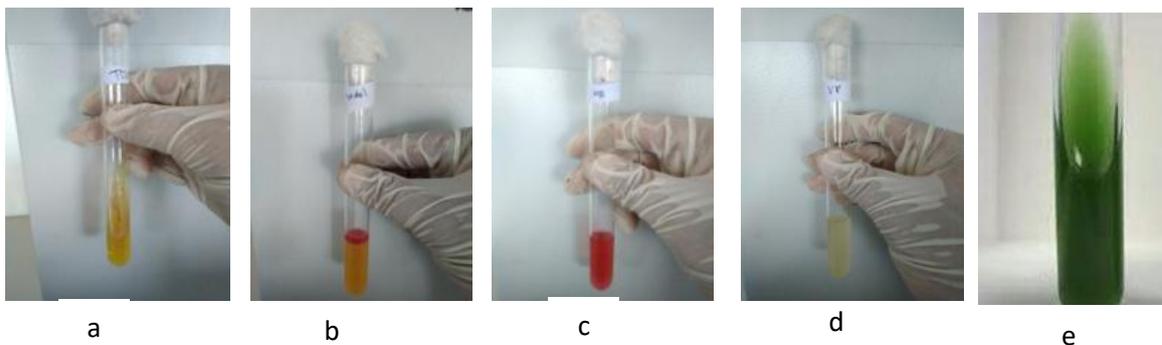
Tabel 4. Hasil Pengamatan Pewarnaan Gram *Salmonella sp.*

Titik pengambilan sampel	Pengulangan	Bentuk Bakteri	Jenis Bkateri
Sumur 1	1	Bacil	Gram Negatif
	2	Bacil	Gram Negatif
	3	Bacil	Gram Negatif
Sumur 2	1	Bacil	Gram Negatif
	2	Bacil	Gram Negatif
	3	Bacil	Gram Negatif

Tabel 5. Hasil uji Biokimia pada bakteri *Escherichia coli*

Karakteristik	Jenis isolat	
	Sumur 1	Sumur 2
Uji gram	Negatif	Negatif
Morfologi sel	Bacillus	Bacillus
Motilitas	+	+
TSIA	(A\A)	(A\A)
Indol	+	+
MR	+	+
VP	-	-
Sitrat	-	-
Hasil identifikasi	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>

Keterangan: (+) positif, (-) negatif, (A) asam, (K) alkalis

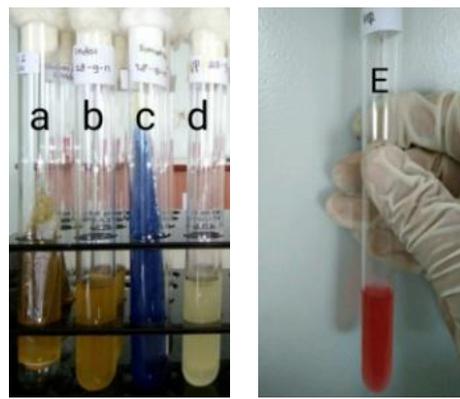


Gambar 3. Hasil Uji Biokimia *Escherichia coli* a. Uji TSIA b. Uji Indol (A/A) c. uji MR (+) d. Uji VP (-) e. Uji Sitrat (-)

Tabel 6. Hasil Uji Biokimia *Salmonella sp.*

Karakteristik	Jenis isolat	
	Sumur 1	Sumur 2
Uji gram	Negatif	Negatif
Morfologi sel	Bacillus	Bacillus
Motilitas	+	+
TSIA	+	+
Indol	(K/A H ₂ S)	(K/A H ₂ S)
MR	+	+
VP	-	-
Sitrat	+	+
Hasil identifikasi	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Salmonella sp.</i>

Keterangan: (+) positif, (-) negatif, (A) asam, (K) alkalis



Gambar 4. Hasil Uji Biokimia *Salmonella sp.* a. Uji TSIA (+) b. Uji Indol (K/A H₂S), c Uji Sitrat (+) d. Uji VP (-) e. Uji MR (+)

4. KESIMPULAN

Pada sampel air kolam renang yang didapat di kolam renang Candi Pari, telah ditemukan bakteri patogen dari kelompok Coliform fekal, yaitu *Escherichia coli*. Pada sampel air kolam renang yang didapat di kolam renang Candi Pari, telah ditemukan bakteri patogen yaitu *Salmonella sp.*

DAFTAR PUSTAKA

Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., & Morse, S. A. (2013). Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnic & Adelberg Edisi 25. Jakarta: EGC.

Cita, D. W., & Adriyani, R. (2013). Kualitas Air dan Keluhan Kesehatan Pengguna Kolam Renang di Sidoarjo. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 7(1), 26-31. Retrieved from <http://journal.unair.ac.id/filerPDF/keslingfac827e6abfull.pdf>

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1991). Peraturan Menteri Kesehatan Nomor: 061/MENKES/PER/I/1991 Tentang Persyaratan Kesehatan Kolam Renang Dan Pemandian Umum. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2010). Petunjuk Pemeriksaan Mikrobiologi Makanan dan Minuman. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Effendi, H. (2003). Telaah Kualitas Air Bagi Pengelolaan Sumber Daya Air dan Lingkungan *Perairan*. Yogyakarta: Kanisius.

Engelkirk, P. G., & Duben, J. L. (2008). Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases. Baltimore: Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins.

Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (1995). Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan Edisi 16. Jakarta: EGC.

Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (2007). Dasar-Dasar Mikrobiologi 1. Jakarta: Universitas Indonesia Press.

Romadhon, Z. (2016). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella sp.* pada Siomay yang Dijual Di Kantin SD Negeri Di Kelurahan Pisangan, Cirendeu, dan Cempaka Putih. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.

Suriawiria, U. (2005). *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.