

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Air

Air merupakan sumber daya alam yang diperlukan untuk hajat hidup orang banyak, bahkan oleh semua makhluk hidup (Effendi, 2003). Air adalah substansi yang memungkinkan terjadinya kehidupan seperti yang ada di bumi. Seluruh organisme sebagian besar tersusun dari air dan hidup dalam lingkungan yang didominasi oleh air. Air adalah medium yang biologis di bumi ini. Air adalah satu-satunya substansi umum yang ditemukan di alam sekitar dalam tiga wujud fisik materi: padat, cair dan gas (Campbell, 2002). Air merupakan suatu sarana utama untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat, karena air merupakan salah satu media dari berbagai macam penularan, terutama penyakit yang berasal dari tunja (Sutrisno, 1987).

1. Penilaian Kualitas Air

Air tidak boleh mengandung kuman patogen dan parasit seperti kuman typhus, kolera, disentri, gastroenteritis dan telur cacing. Secara teknis ada tidaknya kuman patogen atau parasit dalam air menggunakan indikator *Most Probable Number* (MPN) atau perkiraan terdekat jumlah coliform per 100 ml contoh air. *Coliform* dan total *coliform* dalam air minum harus nol. Terdapatnya bakteri *coliform* dalam air dapat dijadikan indikator bahwa air telah mengalami pencemaran terutama oleh kotoran manusia atau hewan berdarah panas (Sarudji, 2010). Menurut audji (2010), ada beberapa alasan

memilih kuman *Escherichia coli* dan *coliform* menjadi indikator pencemaran mikrobiologi :

a) Lebih tahan dibandingkan kuman usus patogen

Karena lebih tahan dibandingkan dengan bakteri usus lainnya, maka dapat dipastikan bakteri patogen usus sudah tidak ada apabila kuman *E.coli* tidak ditemukan dalam pemeriksaan air.

b) Banyak dijumpai pada air kotor, kotoran manusia atau binatang berdarah panas.

c) Banyak *E.coli* dikeluarkan dalam jumlah besar bersama feses.

d) Relative mudah untuk diidentifikasi dan tidak memerlukan waktu yang lama untuk identifikasinya.

2. Persyaratan Kualitas Air Minum

Peraturan menteri kesehatan menyatakan bahwa syarat air minum yang sehat adalah memenuhi syarat fisika, mikrobiologi, kimia dan radioaktif. Selain itu, air minum yang dikonsumsi tidak boleh menimbulkan gangguan kesehatan. Jenis air minum meliputi :

a) Air yang didistribusikan melalui pipa untuk keperluan rumah tangga

b) Air yang didistribusikan melalui tangki air

c) Air kemasan

d) Air yang digunakan untuk produksi bahan makanan dan minuman yang disajikan kepada masyarakat (PerMenKes, 2010).

Penyediaan air bersih harus diperhatikan kualitas dan kuantitasnya serta harus memenuhi standart yang berlaku. Untuk itu setiap perusahaan

penyedia air minum harus selalu memeriksa kualitas airnya sebelum didistribusikan pada konsumen, karena air baku yang digunakan belum tentu memenuhi standart sehingga perlu dilakukan pengolahan agar dapat memenuhi standart air minum. Air minum yang ideal harus jernih, tidak berwarna, tidak berbau, tidak berasa dan tidak mengandung kuman patogen. Pada hakikatnya persyaratan ini dibuat untuk mencegah terjadinya serta meluasnya penyakit bawaan air/waterborne disease (Suriawiria, 2005). Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan nomor 492/Menkes/Per/IV2010 persyaratann kualitas air minum meliputi parameter wajib dan parameter tambahan.

Tabel 3. Persyaratan Kualitas Air Minum

Jenis Parameter	Satuan	Kadar maksimum yang diperbolehkan
Parameter yang berhubungan langsung dengan kesehatan		
a. Parameter Mikrobiologi		
1) E.Coli	Jumlah/100ml sampel	0
2) Total Bakteri Koliform	Jumlah/100ml sampel	0
b. Kimia an-organik		
1) Kadmium	mg/l	0,003
Parameter yang tidak langsung berhubungan dengan kesehatan		
a. Parameter Kimiawi		
1) Besi	mg/l	0,3
2) Mangan	mg/l	0,4

B. Uji Logam

Uji logam ditujukan untuk mengetahui kadar logam dalam suatu bagian sediaan. Logam berat dalam konsentrasi yang sangat rendah disebut sebagai logam renik. Logam berat (*heavy metals*) merupakan sekelompok elemen-elemen logam yang dikategorikan berbahaya jika masuk ke dalam tubuh makhluk hidup. Logam-logam seperti merkuri (Hg), nikel (Ni), kromium (Cr), *Cadmium* (Cd), dan timbal (Pb) dapat ditemukan dalam lingkungan perairan yang tercemar limbah (Nugroho, 2006). Logam berdasarkan toksisitasnya dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu:

1. Toksisitas tinggi, contohnya merkuri, *Cadmium*, timbal, arsen, tembaga dan seng.
2. Toksisitas sedang, contohnya kromium, nikel, dan kobalt (Co).
3. Toksisitas rendah, contohnya mangan (Mn) dan besi (Fe) (Darmono, 1995).

C. Cadmium (Cd)

Logam *Cadmium* (Cd) merupakan logam yang bernomor atom 48 dan massa atom 112,41. Logam ini termasuk dalam logam transisi pada periode V dalam tabel periodik. Logam *Cadmium* dikenal sebagai unsur chalcophile, jadi cenderung ditemukan dalam deposit sulfide (Manahan, 2001). Kemelimpahan *Cadmium* pada kerak bumi adalah 0,13 µg/g. Pada lingkungan akuatik, *Cadmium* relatif bersifat mudah berpindah. *Cadmium* memasuki lingkungan akuatik terutama dari deposisi atmosferik dan efluen pabrik yang menggunakan logam ini dalam proses kerjanya. Di perairan umumnya *Cadmium* hadir dalam bentuk ion-ionnya yang terhidrasi, garam-garam klorida, terkomplekskan

dengan ligan anorganik atau membentuk kompleks dengan ligan organik (Weiner, 2008).

Cadmium di sedimen perairan yang tak terkontaminasi berkisar antara 0,1 sampai 1,0 μ g/g bobot kering. Pada umumnya di air permukaan, baik *Cadmium* terlarut maupun partikulatnya secara rutin dapat terdeteksi. Koefisien distribusi *Cadmium* partikulat/*Cadmium* terlarut pada perairan sungai di dunia berkisar dari 10^4 sampai 10^5 . Fluks input antropogenik secara global per tahun jauh melebihi emisi *Cadmium* dari sumber alamiahnya seperti kegiatan gunung berapi, *Windborne soil particles*, garam-garam dari laut dan partikel biogenik sampai dengan satu tingkatan *magnitude* (Csuros and Csuros, 2002).

Secara global sumber utama *Cadmium* adalah dari deposisi atmosferik, proses smelting dan refining dari logam non ferrous, proses industri terkait produksi bahan kimia dan metalurgi, serta air buangan limbah domestik. Hanya 15% saja dari deposisi atmosferi yang berasal dari sumber-sumber alamiah. Diperkirakan 1.000 ton *Cadmium* dilepaskan per tahun ke atmosfer dari smelters dan pabrik-pabrik yang mengolah *Cadmium*. Pelepasan *Cadmium* ke dalam perairan alamiah sebagian besar berasal dari industri galvanik, sumber lain polusi *Cadmium* adalah industri baterai, pupuk dan fungisida yang mengandung *Cadmium* dan Zn juga merupakan sumber potensial polusi kedua logam ini (Allen *et al.*, 1998).

Cadmium merupakan logam yang bersifat kronis dan pada manusia biasanya terakumulasi dalam ginjal. Keracunan *Cadmium* dalam waktu yang lama membahayakan kesehatan paru-paru, tulang, hati, kelenjar reproduksi dan

ginjal. Logam ini juga bersifat neurotoksin yang menimbulkan dampak rusaknya indera penciuman (Anwar, 1996).

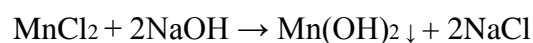
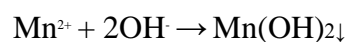
D. Mangan (Mn)

Mangan (Mn) adalah kation logam yang memiliki karakteristik kimia serupa dengan besi. Mangan berada pada bentuk manganous (Mn^{2+}) dan manganik (Mn^{4+}). Di dalam tanah, Mn^{4+} berada dalam bentuk senyawa mangan dioksida. Pada perairan dengan kondisi anaerob akibat dekomposisi bahan organik dengan kadar yang tinggi, Mn^{4+} pada senyawa mangan dioksida mengalami reduksi menjadi Mn^{2+} yang bersifat larut. Mn^{2+} berikatan dengan nitrat, sulfat dan klorida, dan larut dalam air. Mangan dan Besi valensi dua hanya terdapat pada perairan yang memiliki kondisi anaerob. Jika perairan kembali mendapat cukup aerasi, Mn^{2+} mengalami reosidasi membentuk Mn^{4+} yang selanjutnya mengalami presipitasi dan mengendap di dasar perairan (Effendi, 2003). Meskipun tidak bersifat toksik, mangan dapat mengendalikan kadar unsur toksik di perairan, misalnya logam berat. Jika dibiarkan di udara terbuka dan mendapat cukup oksigen, air dengan kadar mangan (Mn^{2+}) tinggi (lebih dari 0,01 mg/L) akan membentuk koloid karena terjadinya proses oksidasi Mn^{2+} menjadi Mn^{4+} . Koloid ini mengalami presipitasi membentuk warna coklat gelap sehingga air menjadi keruh (Effendi, 2003).

Logam mangan (Mn) adalah metal keabu-kemerahan. Keracunan seringkali bersifat kronis sebagai akibat inhalasi debu dan uap logam. Gejala yang timbul berupa gejala susunan syaraf: insomnia, kemudian lemah pada kaki dan otot muka sehingga ekspresi muka menjadi beku dan muka tampak

seperti topeng. Bila pemaparan berlanjut maka, bicaranya melambat dan monoton, terjadi hyperrefleksi (Slamet, 2013).

Mangan merupakan logam keras, mudah retak, serta mudah teroksidasi. Mangan memiliki nomor atom 25, elektron valensi +2, +3, +4, +6, dan +7. Mangan dengan elektron valensinya +2 mudah bereaksi dengan asam hidroklorit membentuk $MnCl_2$. Sedangkan elektron valensi +3 (manganit) bersifat tidak stabil dan mudah berubah menjadi elektron valensi +2 (Widowati, 2008). Mangan bereaksi dengan air yang akan membentuk mangan (II) hidroksida dan gas hidrogen: $Mn + 2H_2O \rightarrow Mn(OH)_2 \downarrow + H_2 \uparrow$. Mangan bereaksi dengan asam mineral encer atau asam- asam klorida encer yang akan menghasilkan garam mangan (II) atau ion mangan (II) dan gas hidrogen : $Mn + 2H^+ \rightarrow Mn^{2+} + H_2 \uparrow$. Mangan bereaksi dengan Asam Sulfat pekat, yang akan menghasilkan gas belerang dioksidasi : $Mn + 2H_2SO_4 \rightarrow Mn^{2+} + SO_4^{2-} + SO_2 + 2H_2O \uparrow$ (Vogel, 1990). Mangan bereaksi dengan larutan natrium hidroksida sehingga menghasilkan endapan mangan (II) hidroksida yang berwarna putih dengan reaksi:



Sedangkan sifat fisika yang dimiliki logam mangan yaitu berwarna abu – abu keputihan, dengan densitas 7,43 g/cm³ pada 20° C. Mangan melebur pada kira - kira 1250°C. Mangan murni bersifat amat reaktif dan dalam bentuk bubuk akan terbakar dengan oksigen. Kadar mangan pada perairan alami sekitar 0,2 mg/liter atau kurang. Kadar yang lebih besar dapat terjadi pada air tanah

dalam dan pada danau yang dalam. Perairan asam dapat mengandung mangan sekitar 10 – 150 mg/liter. Pada air minum, kadar mangan maksimum 0,05 mg/liter (Effendi, 2003). Mangan merupakan unsur yang dalam keadaan normal memiliki bentuk padat. Massa jenis mangan pada suhu kamar yaitu sekitar 7,21 g/cm³ dengan titik didih mangan ada pada suhu 2061°C. Kapasitas kalor pada suhu ruang adalah sekitar 26,32 J/mol. K.

E. Besi (Fe)

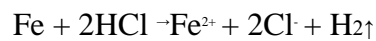
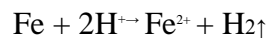
Besi adalah salah satu elemen kimiawi yang dapat ditemui pada hampir setiap tempat di bumi, pada semua lapisan geologis dan semua badan air (Alaerts, 1987). Logam besi ditemukan dalam inti bumi berupa hematit. Besi hampir tidak dapat ditemukan sebagai unsur bebas. Besi diperoleh dalam bentuk tidak murni sehingga harus melalui reaksi reduksi guna mendapatkan besi murni. Besi ditemukan terutama sebagai mineral hematit (Fe₂O₃); magnetit (Fe₃O₄); mineral lain yang merupakan sumber Besi adalah limonit (FeO(OH)nH₂O), siderit (FeCO₃), dan tekonit. Inti bumi sebagian besar terdiri dari alloy besi – nikel (Fe-Ni) dan kira-kira 5 % meteorit yang mengandung alloy Fe-Ni (Widowati,2008). Besi dibutuhkan oleh tubuh dalam pembentukan hemoglobin, banyaknya besi di dalam tubuh dikendalikan pada fase absorpsi. Tubuh manusia tidak dapat mengeskresikan besi. Karenanya mereka yang sering mendapat transfusi, warna kulitnya menjadi hitam karena akumulasi besi (Slamet, 2013).

Pada air permukaan jarang ditemui kadar Fe lebih besar dari 1 mg/l, tetapi didalam air tanah kadar Fe dapat jauh lebih tinggi. Konsentrasi Fe yang tinggi ini dapat dirasakan dan dapat menodai kain dan perkakas dapur. Dalam air minum besi menimbulkan rasa, warna (kuning), pengendapan pada dinding pipa, pertumbuhan bakteri besi dan kekeruhan. Zat besi merupakan suatu komponen dari berbagai enzim yang mempengaruhi seluruh reaksi kimia yang penting di dalam tubuh (Nainggolan dan Susilawati, 2011).

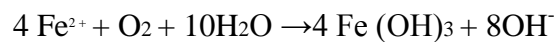
Pada umumnya besi yang ada dalam air dapat bersifat terlarut sebagai Fe²⁺ (fero) atau Fe³⁺ (feri), tersuspensi sebagai butir koloidal (diameter < 1 µm) atau lebih besar, seperti Fe₂O₃, FeO, FeO(OH), Fe(OH)₃ dan sebagainya. Besi dapat bergabung dengan zat organik atau zat padat yang inorganik seperti tanah liat (Alearts, 1987). Besi murni cukup reaktif. Dalam udara lembab cepat teroksidasi membentuk besi (III) oksida hidrat. Besi memiliki Nomor Massa sebesar 57 Besi memiliki berat atom sebesar 55,845 g/mol. Besi merupakan logam transisi dan memiliki nomor atom 26 (Alearts, 1984).

Pada pH sekitar 7,5-7,7 ion ferri mengalami oksidasi dan berikatan dengan membentuk Fe(OH)₃ yang bersifat tidak larut dan mengendap di dasar perairan, pembentuk warna kemerahan pada substrat dasar. Oleh karena itu, besi hanya ditemukan pada perairan yang berada dalam kondisi anaerob (anoksik) suasana asam $Fe^{3+} + 3OH^- \rightarrow Fe(OH)_3$ (Vogel, A.I. 1990).

Besi bereaksi dengan Asam Klorida encer atau pekat sehingga melarutkan besi, yang akan menghasilkan garam-garam besi (II) dan gas hidrogen :



Secara umum Fe(II) terdapat dalam air tanah berkisar antara 1,0 -10 mg/l, namun demikian tingkat kandungan besi sampai sebesar 50 mg/l dapat juga ditemukan dalam air tanah ditempat – tempat tertentu. Air tanah yang mengandung Fe (II) mempunyai sifat –sifat yang unik. Dalam kondisi ada oksigen air tanah yang mengandung Fe (II) jernih, begitu mengalami oksidasi oleh oksigen yang berasal dari atmosfer ion ferro akan berubah menjadi ion ferri dengan reaksi sebagai berikut :



Dalam perairan dengan pH sangat rendah, kedua bentuk ion ferro dan ferri dapat ditemukan. Hal ini terjadi bila perairan memperoleh buangan dari limbah tambang asam. Limbah yang bersifat H_2SO_4 yang dihasilkan oleh oksidasi dari oksidasi FeS_2 (biji besi) melalui reaksi sebagai berikut: $2 \text{FeS}_2(\text{s}) + 2\text{H}_2\text{O} + 7\text{O}_2 \rightarrow 4 \text{H}^+ + 4 \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{Fe}^{2+}$. Sifat fisika yang dimiliki logam besi sendiri yaitu Besi memiliki titik leleh sebesar $1,538^{\circ}\text{C}$ dan memiliki masa jenis (sekitar suhu kamar) $7,86 \text{ g/cm}^3$ dengan titik lebur besi sebesar 1811 K (1538°C , 2800°F) (Slamet, 2013).

Besi memiliki peleburan 3134 K, kalor penguapan 340 kJ/mol dan kapasitas Kalor (25°C) $25,10 \text{ j}/(\text{mol.K})$. Besi bersifat keras dan kuat yang mempunyai daya hantar listrik dan panas yang baik. Karena memiliki ikatan

ganda dan ikatan kovalen logam. Besi memiliki titik didih sebesar $2,861^{\circ}\text{C}$. Fe menempati urutan sepuluh besar sebagai unsur di Bumi. Besi menyusun 5 – 5,6 % dari kerak bumi dan menyusun 35 % dari masa bumi. Besi menempati berbagai lapisan bumi. Konsentrasi tertinggi terdapat pada lapisan dalam dari inti bumi dan sejumlah kecil terdapat di lapisan terluar kerak bumi. Beberapa tempat di bumi bisa mengandung besi mencapai 70 % (Widowati,2008). Di dalam air minum besi menimbulkan rasa, warna (kuning), pengendapan pada dinding pipa, pertumbuhan bakteri besi, dan kekeruhan (Slamet, 2013).

F. Spektrofotometri Serapan Atom

Metode Spektrofotometri Serapan Atom (SSA) berprinsip pada absorpsi cahaya oleh atom. Atom-atom menyerap cahaya tersebut pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Logam-logam yang mudah diuapkan seperti Cu, Pb, Zn, Cd pada umumnya ditentukan pada suhu rendah sedangkan untuk unsur-unsur yang tak mudah diatomisasi diperlukan suhu tinggi. Suhu tinggi dapat dicapai dengan menggunakan suatu oksidator bersama dengan gas pembakar, contohnya atomisasi unsur seperti Al, Ti, Be jarang perlu menggunakan nyala oksiasetilena atau nyala nitrogen oksidaasetilena sedangkan untuk atomisasi unsur alkali yang membentuk refraksi harus menggunakan campuran asetilena udara (Khopkar, 1990).

Umumnya bahan bakar yang digunakan adalah propane, butane, hydrogen dan asetilen, sedangkan oksidatornya adalah udara, oksigen, N_2O dan asetilen (Khopkar, 1990). Cara kerjanya berdasarkan penguapan larutan sampel, kemudian logam yang terkandung di dalamnya diubah menjadi atom bebas.

Atom tersebut mengabsorpsi radiasi dari sumber cahaya yang dipancarkan dari lampu katoda (*hollow cathode lamp*) yang mengandung unsur yang akan ditentukan. Banyaknya penyerapan radiasi kemudian diukur pada panjang gelombang tertentu menurut jenis logamnya (Darmono, 1995).

Larutan Sampel diaspirasikan ke suatu nyala dan unsur-unsur di dalam sampel diubah menjadi uap atom sehingga nyala mengandung atom unsur-unsur yang dianalisis. Beberapa diantara atom akan tereksitasi secara termal oleh nyala tetapi kebanyakan atom tetap tinggal sebagai atom netral dalam keadaan dasar (*ground state*). Atom-atom *ground state* ini kemudian menyerap radiasi yang diberikan oleh sumber radiasi yang terbuat oleh unsur-unsur yang bersangkutan. Panjang gelombang yang dihasilkan oleh sumber radiasi adalah sama dengan panjang gelombang yang diabsorpsi oleh atom dalam nyala. Absorpsi ini mengikuti hukum Lambert-Beer, yaitu serapan berbanding lurus dengan panjang nyala yang dilalui sinar dan konsentrasi uap atom dalam nyala. Kedua variabel ini sulit untuk ditentukan tetapi panjang nyala dapat dibuat konstan sehingga serapan hanya berbanding langsung dengan konsentrasi analit dalam larutan sampel. Teknik-teknik analisisnya yaitu kurva kalibrasi, standar tunggal dan kurva adisi standar (Aziz, 2007).

Aspek kualitatif dari metode spektrofotometri diterangkan oleh hukum Lambert-Beer, yaitu :

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c \text{ atau } A = a \cdot b \cdot c$$

Dimana :

A = Serapan

ϵ = Absorptivitas molar (mol/L)

a = Absorptivitas (g/L)

b = Tebal nyala (nm)

c = Konsentrasi (ppm)

Absorptivitas molar (ϵ) dan absorptivitas (a) adalah suatu konstanta dan nilainya spesifik untuk jenis zat dan panjang gelombang tertentu, sedangkan tebal media (sel) dalam prakteknya tetap. Dengan demikian serapan suatu spesies akan merupakan fungsi linier dari konsentrasi, sehingga dengan mengukur serapan suatu spesies konsentrasinya dapat ditentukan dengan membandingkannya dengan konsentrasi larutan standar (Aziz, 2007).

Ada tiga proses metode atomisasi pada SSA antara lain :

1. Atomisasi dengan nyala

Pada spektrofotometri nyala api serapan atom (FAAS = flame atomic absorption spectrophotometry), cuplikan disediakan dalam bentuk dalam nyala gas bakar. Kejadian dan transisi terjadi pada pemasukan larutan yang mengandung unsur logam M ke dalam nyala. Populasi atom di dalam nyala bergantung pada suhu nyala, sedangkan suhu nyala bergantung pada jenis dan perbandingan gas bahan bakar dan gas oksidan. Untuk eksitasi termal

jumlah atom tereksitasi ke tingkat tenaga eksitasi berada dalam kesetimbangan dengan jumlah atom pada tingkat tenaga dasar.

2. Atomisasi dengan metode penguapan

Metode ini digunakan untuk sembilan unsur yaitu As, Bi, Sn, Se, Te, Ge dan Hg. Metode ini menggunakan beberapa pereaksi kimia dalam prosedur atomisasinya, sehingga logam yang akan dianalisis dalam larutan cuplikan dalam bentuk molekuler sederhana kecuali untuk Hg dalam bentuk atom-atom bebas.

3. Atom dengan *furnace* (*furnace atomisasi*)

Atomisasi dengan tanur (*Furnace Atomization*) dengan mengukur batang listrik pada karbon (CRA : *Carbon Red Atomizer*) yang biasanya berbentuk tabung grafit. Cuplikasi diletakkan pada tabung grafit dan arus listrik dialirkan melalui tabung tersebut, kemudian tabung dipanaskan sampai suhu tinggi sehingga cuplikan akan teratomisasi. Suhu tabung grafit dapat dinaikkan dengan cara menaikkan arus listrik sehingga suhu optimum untuk setiap unsur yang ditentukan dapat dicapai dengan mudah.

G. Uji Mikrobiologi

Mikrobiologi adalah ilmu yang mempelajari organisme yang berukuran sangat kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang melainkan harus menggunakan bantuan mikroskop. Organisme yang sangat kecil ini disebut sebagai mikroorganisme, atau sering disebut mikroba ataupun jasad renik. Saat ini, mikrobiologi sangat berkembang luas pada berbagai bidang ilmu pengetahuan, misalnya pertanian, industri, kesehatan, lingkungan hidup,

bidang pangan, bahkan bidang antariksa (Waluyo, 2009). Uji mikrobiologi pada air minum dalam kemasan melalui beberapa tahap yaitu :

a. *Presumptive phase*

Presumptive phase merupakan uji penduga adanya bakteri di dalam air. Uji ini bisa dilakukan dengan menggunakan media *Lauryl Tryptose Broth*. Produksi reaksi asam atau gas dalam tabung atau botol dalam waktu 48 ± 3 jam merupakan reaksi dugaan positif. Tidak adanya reaksi asam atau pembentukan gas pada akhir 48 ± 3 jam inkubasi merupakan tes negative. Tabung dengan reaksi dugaan positif dapat dilanjutkan ke tahap *confirmed phase* (Clesceri, dkk. 1999).

b. *Confirmed phase*

Confirmed phase merupakan uji konfirmasi adanya bakteri yang tumbuh pada media. Pada tahap ini media yang digunakan adalah *brilliant green lactose bile broth*. Tabung berisi *Brilliant green lactose bile broth* diinkubasi pada suhu $35 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Tabung yang menunjukkan pertumbuhan, jumlah gas, atau reaksi asam dalam waktu 24 ± 2 jam setelah inkubasi lanjutkan ke tahap selanjutnya. Jika fermentasi aktif atau reaksi asam muncul dalam tabung dugaan lebih awal dari 24 ± 2 jam, transfer ke media selanjutnya; sebaiknya periksa tabung pada 18 ± 1 jam. Jika tabung atau botol dugaan tambahan menunjukkan fermentasi aktif atau reaksi asam pada akhir periode inkubasi 48 ± 3 jam tetap lanjutkan ke tahap selanjutnya (Clesceri, dkk. 1999).

c. Completed phase

Completed phase merupakan uji akhir untuk menetapkan keberadaan bakteri coliform dan untuk memberikan data kontrol kualitas, guna tes lengkap pada setidaknya 10% dari tabung positif dikonfirmasi. Pada tahap ini dapat digunakan media *nutrient agar*, *MacConkey agar*, *LES Endo agar* dan pereaksi pewarnaan gram (Clesceri, dkk. 1999).

H. Bakteri *Coliform*

Coliform merupakan bakteri yang memiliki habitat normal di usus manusia dan juga hewan berdarah panas. Kelompok bakteri *Coliform* diantaranya *Escherichia*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, dan *Enterobacter*. Beberapa definisi juga menambahkan *Serratia*, *Salmonella* dan *Shigella* sebagai kelompok bakteri *Coliform*. Bakteri *Coliform* terutama *E. coli* menjadi indikasi dari kontaminasi fekal pada air minum dan makanan. Kehadiran bakteri *Coliform* dinilai untuk menentukan keamanan mikrobiologi dari pasokan air dan makanan mentah atau makanan yang diolah (Acton, 2013).

Bakteri *Coliform* dibagi menjadi 2 golongan yaitu *Coliform* fekal yang berasal dari tinja manusia, dan *Coliform* non fekal yang bukan berasal dari tinja manusia. *Coliform* fekal biasanya ditemukan di saluran usus dari kebanyakan hewan berdarah panas, dan memiliki karakteristik yang halus guna membantu membedakan dari jumlah *Coliform* lainnya. Hampir semua *Coliform* fekal mampu memfermentasi pada suhu yang lebih tinggi dari 44,5⁰C-45,5⁰C. Bakteri *Coliform* mampu tumbuh baik pada beberapa jenis substrat dan dapat mempergunakan berbagai jenis karbohidrat dan komponen organik lain sebagai

sumber energi dan beberapa komponen nitrogen sederhana sebagai sumber nitrogen, mempunyai interval suhu pertumbuhan antara 10-46,5⁰C, mampu menghasilkan asam dan gas gula (Knechtges, 2011).

Ciri-ciri bakteri *Coliform* antara lain termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang, tidak membentuk spora, bersifat areob atau anaerob fakultatif, bakteri *Coliform* memproduksi gas dari glukosa (gula lainnya) dan memfermentasi laktosa menjadi asam dan gas dalam waktu 48 jam pada suhu 35⁰C, bakteri *Coliform* yang berada di dalam makanan atau minuman menunjukkan kemungkinan adanya mikroba yang bersifat enteropatogenik atau toksigenik yang berbahaya bagi kesehatan (Batt, 2014).

I. *Escherichia Coli*

Escherichia coli (*E.coli*) umumnya hidup pada saluran pencernaan manusia dan hewan sehingga kontaminasi bakteri ini pada makanan biasanya berasal dari kontaminasi air yang digunakan. Bahan makanan yang sering terkontaminasi oleh *E.coli* diantaranya ialah daging ayam, daging babi, selama penyembelihan, ikan dan makan-makanan hasil laut lainnya, telur dan produk olahannya, sayuran, buah-buahan, sari buah, serta bahan minuman seperti susu dan lainnya (Supardi, 1998).

Klasifikasi *E.coli* adalah sebagai berikut berdasarkan (Brooks, 2001) :

Superdominan	: Phylogenetica
Filium	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales

Famili : Enterobacteriaceae

Spesies : *Escherichia coli*

E.coli diklasifikasikan berdasarkan sifat virulensinya sebagai berikut :

1. Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC)

EPEC merupakan penyebab diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC melekat pada sel mukosa usus kecil yang mengakibatkan diare disertai muntah-muntah dan demam, yang biasanya susah diatasi namun tidak kronis. Musafir dan bayi, terutama di daerah beriklim tropis. EPEC menyebabkan diare yang disertai dengan kram dan suhu turun atau tidak demam. Diare yang disebabkan EPEC hampir sama dengan kolera karena gterganggunya proses pencernaan akibat infeksi bakteri (Miliotis, 2003).

2. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC)

ETEC merupaka penyebab diare pada musafir bayi, terutama di daerah beriklim tropis. ETEC menyebabkan diare yang disertai dengan kram dan suhu turun atau tidak demam. Diare yang disebabkan ETEC hampir sama dengan kolera karena terganggunya proses pencernaan akibat infeksi bakteri (Miliotis, 2003).

3. Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC)

Infeksi dari EIEC hampir sama dengan penyakit yang disebabkan oleh *Shigella*. Penyakit ini disertain dengan demam dan kram pada perut sehingga mengakibatkan *colonic phase with bloody* dan *mucoïd stools*. Infeksi EIEC ditemukan pada cemaran makanan, air dan juga ditularkan

dari orang ke orang (Miliotis, 2003).

4. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)

EHEC menyebabkan hemorragik kolitis, yaitu diare yang disertai dengan hemolitik syndrome (HUS) dan thrombositopenia. Kasus HUS merupakan penyebab gagal ginjal pada anak-anak di amerika serikat (Miliotis, 2003)

5. Enteroaggregative *Escherichia coli* (EAEC)

EAEC menyebabkan diare dan kronis yang gejalanya timbul dalam jangka waktu lebih dari 14 hari. Organisasi ini juga menyebabkan penyakit akibat makanan di negara berkembang. Patogenesis EAEC penyebab diare tidak terlahu dipahami, meskipun melekat pada mukosa intestinal dan menghasilkan enterotoksin dan sitotoksin. Enterotoksin dan sitotoksin yang dihasilkan dapat menyebabkan kerusakan mukosa, pengeluaran mukus dan terjadinya diare pada manusia (Brooks, 2001)

J. Fungi

Fungi (jamur) merupakan organisme eukariot yang memiliki dinding sel yang tersusun dari kitin dan memiliki nukleat yang banyak. Fungi bersifat kemoorganotrof karena mendapatkan nutrisi dengan cara mensekresi enzim ekstraseluler yang dapat mencerna senyawa organik kompleks seperti polisakarida dan protein menjadi penyusun monomer dan kemudian diserap ke dalam sel fungi (Madigan, 2009). Fungi ada yang bersifat parasit dan ada pula bersifat saprofit. Parasit apabila dalam memenuhi kebutuhannya dengan mengambil dari benda mati dan tidak merugikan benda itu sendiri.

Fungi mensintesis protein dengan mengambil sumber karbon dan karbohidrat (misalnya : glukosa, sukrosa atau maltosa), sumber nitrogen dari bahan organik atau anorganik dan mineral dari substratnya. Ada beberapa fungi yang dapat mensintesis vitamin-vitamin yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sendiri tetapi ada yang tidak dapat mensintesis sendiri sehingga harus mendapatkan dari substrat, misalnya thiamin dan biotin (Waluyo, 2007). Secara umum fungi dapat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan tipe selnya yaitu fungi bersifat uniselular yang biasa disebut khamir dan fungi yang bersifat multiselular yang biasa disebut kapang (Pelczar, 2005).

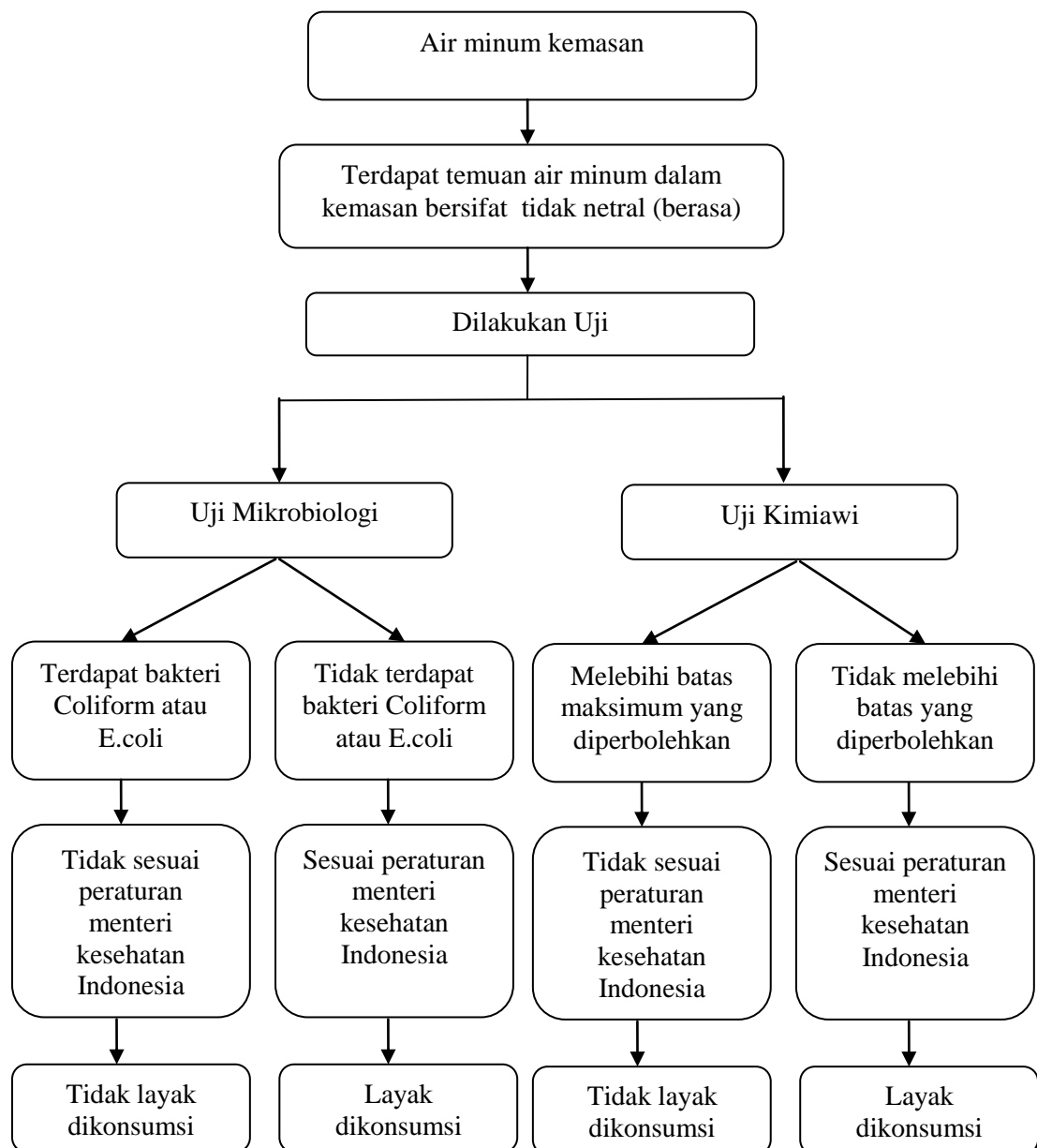
Kapang adalah fungi multiselular yang mempunyai filament dan pertumbuhannya pada makanan mudah dilihat karena penampaknya yang berserabut seperti kapas. Pertumbuhannya mula-mula akan berwarna putih tetapi jika sporangia telah timbul akan terbentuk berbagai warna tergantung dari jenis kapang. Kapang terdiri dari suatu thallus (jamak=thalli) yang tersusun dari filamen yang bercabang yang disebut dengan hifa (tunggal= hypha, jamak = gyphae). Kumpulan dari hifa disebut misellium (tunggal = mycelium, jamak = mycelia) (Pelczar, 2005). Khamir adalah fungi bersel satu yang mikroskopik, beberapa generasi ada yang membentuk misellium dengan percabangan. Khamir hidupnya sebagian ada yang saprofit dan ada beberapa yang parasitik. Sel khamir mempunyai ukuran yang bervariasi, yaitu dengan panjang 1-5 mikrometer sampai 20-50 mikrometer dan lebar 1-10 mikrometer (Pelczar, 2005).

Secara makroskopis ada beberapa karakter yang harus diperhatikan ada pengamatan kapang ialah warna koloni, tekstur koloni, zonasi, *radial furrow*, *exudate drop*, *reverse colony* dan *growing zone*. Teksture koloni pada kapang umumnya *granular* (bergranul), *velvety* (beludru), *flocose* dan *wooly* (seperti kapas). Zonasi merupakan daerah pertumbuhan kapang yaitu pertumbuhan hifa aerial dan hifa substrat secara bergantian. Zonasi berupa lingkaran-lingkaran yang menunjukkan perbedaan warna (terang dan gelap) sebagai akibat pertumbuhan vegetatif dan generatif secara bergantian. *Radial furrow* merupakan garis radial yang merupakan perpanjangan stolon dari koloni kapang. *Exudate drop* merupakan hasil metabolit sekunder yang umumnya berupa titik-titik cairan. *Reverse colony* merupakan warna bagian bawah kapang, yang dapat diamati dengan melihat bagian bawah cawan petri. *Growing zone* merupakan daerah pertumbuhan yang sejajar dengan tepi luar, umumnya berwarna putih karena miselium sedang tidak bersporulasi (Pelezar dkk. 1993).

Pengamatan morfologi khamir dapat dilakukan secara makroskopi maupun mikroskopi (Gandjar dkk. 1992). Karakter yang perlu diperhatikan untuk identifikasi khamir secara makroskopik adalah warna, tekstur, permukaan koloni, profil dan tepi koloni. Warna koloni berbeda-beda sesuai dengan warna pigmen warna yang terdapat pada sel khamir itu sendiri. Tekstur khamir terdapat seperti *mucoïd* (berlendir) dan *butyrous* (seperti mentega). Permukaan koloni dapat tampak kusam dan mengkilat. Profil koloni bisa rata,

menggunung dan cekung. Tepi koloni terbagi menjadi entire (rata), undulate (bergelombang), filoform, culed dan lobate (Alcamo. 1998).

K. Kerangka konsep



Gambar 1. Skema Konsep Penelitian

L. Hipotesis

- A. Bentuk fisik air minum dalam kemasan merek X dan Y yaitu netral tidak berasa, tidak berbau dan jernih.
- B. Air minum dalam kemasan merek X dan Y memiliki kadar logam *cadmium* maksimal 0,003 mg/L, mangan maksimal 0,4 mg/L dan besi maksimal 0,3 mg/L.
- C. Tidak ada kandungan bakteri Coliforn dan E.coli pada air minum dalam kemasan merek X dan merek Y.
- D. Air minum dalam kemasan merek X dan merek Y memenuhi persyaratan yang air minum dalam kemasan berlaku di Indonesia.