

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kesehatan Universitas Katolik Musi Charitas Palembang selama 6 hari dari tanggal 13-18. Penelitian dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* dengan suhu 35°C dan 37°C pada media *Plate Count Agar*. Media yang digunakan untuk uji kepekaan adalah media *Plate Count Agar* yang telah ditanami dengan suspensi bakteri *Escherichia coli* disetarakan dengan standar *mac farland* 0,5 dengan suhu inkubasi 35°C dan 37°C. Pada penelitian ini pengulangan dilakukan sebanyak 16 kali.

Sampel pada penelitian sebanyak 32 buah yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu 16 untuk suhu 35°C dan 16 untuk suhu 37°C. Uji sterilitas dan uji kualitas terhadap media dilakukan sebelum penelitian.

#### 1. Hasil Uji Spesies *Escherichia coli*

##### 1.1. Hasil Pemeriksaan Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan gram yang dilakukan pada bakteri *Escherichia coli* diamati secara mikroskopis didapatkan hasil bakteri gram (-) bacil (+) yaitu bakteri dengan bentuk batang berwarna merah.



## 1.2. Hasil Identifikasi Uji Biokimia

Identifikasi uji biokimia dilakukan dengan uji pada media pepton water atau uji indol, *Methyl Red*, Voges proskauer, dan Simmon's citrate.

Tabel 4.1 Hasil identifikasi uji biokimia (IMVIC)

Uji IMVIC	Hasil	Keterangan
Indol	Positif (+)	Terbentuk cincin berwarna merah
<i>Methyl Red</i> (MR)	Positif (+)	Terbentuk warna merah
Voges proskauer (VP)	Negatif (-)	Tidak ada perubahan warna
Simmon's citrate	Negatif (-)	Tidak ada perubahan warna

Berdasarkan hasil uji biokimia yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa bakteri *Escherichia coli*. Identifikasi uji biokimia bakteri *Escherichia coli* pada uji biokimia IMVic didapatkan hasil positif pada uji indol dan *Methyl Red*, sedangkan pada uji Voges proskauer dan Simmon's citrate mendapat hasil negatif. Pada pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* didapatkan hasil uji indol positif (+) yang ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna merah. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri memiliki kemampuan untuk menghasilkan indol dengan menggunakan enzim tryphophanase (Nutriana, 2014).

Pada uji *Methyl Red* didapatkan hasil *Mrthyl Red* positif (+) yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari kuning menjadi merah, hal ini menyatakan bahwa adanya kemampuan

bakteri dalam memproduksi dan memelihara kestabilan asam dari proses akhir fermentasi glukosa (Romadhon, 2016).

Pada uji Voges Proskauer didapatkan hasil negatif (-) yang ditandai dengan media bewarna kuning. Uji Voges proskauer merupakan uji yang digunakan untuk mendeteksi adanya butylene glycol yang memproduksi bakteri (Antriana, 2014). Pada pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* uji Voges proskauer didapatkan hasil negatif (-) yang artinya bakteri tersebut tidak mempunyai kemampuan untuk mendeteksi adanya butylene glycol.

Pada uji Simmon's citrate didapatkan hasil negatif (-) yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna dari hijau ke biru (warna tetap hijau). Uji sitrat ini digunakan untuk melihat kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi. Pada hasil yang didapat uji sitrat mendapatkan hasil negatif (-) yang artinya bakteri tidak mempunyai kemampuan menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi.

### 1.3. Hasil Uji Sterilitas Media

Uji sterilitas adalah suatu tindakan non penanaman biakan bakteri *Escherichia coli* pada *Plate Count Agar* dan *Nutrient Agar* diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35<sup>0</sup>C dan suhu 37<sup>0</sup>C, kemudian dilihat apakah terdapat bakteri yang tumbuh dan tidak pada media tersebut. Hasil yang diperoleh seperti pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Sterilitas Media

Media	Hasil	Keterangan
<i>Plate Count Agar</i>	Tidak Tumbuh	Media steril
<i>Nutrient Agar</i>	Tidak Tumbuh	Media steril

Hasil uji sterilitas yang dilakukan pada media Plate Count Agar dapat diketahui bahwa pada media tersebut tidak ada pertumbuhan mikroorganisme baik bakteri maupun jamur.

#### 1.4. Hasil Uji Kualitas Media

Uji kualitas media atau uji kesuburan media merupakan suatu tindakan penanaman biakan bakteri *Escherichia coli* pada media *Plate Count Agar* dan *Nutrient Agar*. Hasil uji kesuburan media Plate Count Agar pada media mengalami pertumbuhan yang baik karena pada media tersebut tumbuh koloni yang bulat dan utuh. Pada penelitian uji kualitas media dilakukan dengan cara menanam bakteri pada media dengan suspensi pengenceran  $10^2$ .

Tabel 4.3 Hasil Uji Kesuburan Media

Media	Hasil	Keterangan
<i>Plate Count Agar</i>	30	Media subur
<i>Nutrient Agar</i>	25	Media subur

Hasil uji kesuburan media *Plate Count Agar* dan *Nutrient Agar* pada masing-masing media mengalami pertumbuhan yang baik karena pada media tersebut tumbuh koloni yang bulat dan utuh. Pada penelitian uji kualitas media dilakukan dengan cara menanam bakteri pada media dengan suspensi pengenceran  $10^4$ . Berdasarkan hasil pertumbuhan pada media *Plate Count Agar* dan *Nutrient Agar* maka media tersebut dapat dinyatakan subur.

## 2. Hasil Jumlah Koloni Bakteri

Jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* yang ditanam pada media *Plate count Agar* dengan pengenceran  $10^3$  suhu  $35^{\circ}\text{C}$  dan suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .

No	Jumlah koloni pada suhu $35^{\circ}\text{C}$	No	Jumlah koloni pada suhu $37^{\circ}\text{C}$
1	25	1	33
2	30	2	30
3	15	3	30
4	30	4	27
5	28	5	27
6	22	6	25
7	23	7	30
8	22	8	20
9	25	9	30
10	20	10	22
11	25	11	25
12	30	12	22
13	27	13	25
14	22	14	22
15	25	15	20
16	20	16	30
Jumlah	389	Jumlah	418
rata-rata	24,3	Rata-rata	26,1
SD	4,17	SD	4,11

## 3. Analisis Data

Data hasil penelitian jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* pada media *Plate Count Agar* dengan suhu inkubasi  $35^{\circ}\text{C}$  dan  $37^{\circ}\text{C}$ . Untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak, maka perlu dilakukan uji normalitas shapiro-wilk.

Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.
Suhu 35°C	,943	16	,387
Suhu 37°C	,916	16	,148

Hal ini dikarenakan sampel data berjumlah <50. Hasil analisis data diperoleh nilai sig. Pada suhu 35°C sebesar 0,387 dan nilai sig. Pada suhu 37°C sebesar 0,148, sehingga dapat diketahui bahwa data pada jumlah koloni pada suhu 35°C dan 37°C terdistribusi normal. Artinya statistik yang digunakan untuk menguji hipotesis adalah statistik parametrik yaitu dependent t test. Pada hasil analisis didapatkan seperti pada tabel 4.6.

Tabel 4.6 Analisis *Dependent t test*

Suhu Inkubasi	Mean ± SD	Sig. (2-tailed)
Suhu 35°C	24,31 ± 4,175	0,242
Suhu 37°C	26,13 ± 4,113	

Dari analisa data yang dilakukan, diketahui nilai sig, (2-tailed) adalah  $0,242 > 0,05$ , yang bearti tidak terdapat perbedaan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* pada media *Plate Count Agar* dengan suhu inkubasi 35°C dan 37°C.

## B. Pembahasan

Pada penelitian, uji pendahuluan dilakukan dengan beberapa uji, diantaranya uji sterilitas, uji kualitas media, dan uji standar bakteri. Pada penelitian yang dilakukan pemindahan biakan dari media *Nutrient Agar* lalu dibuat suspensi dan ditanam pada media *Plate Count Agar*. Lalu di inkubasi pada suhu 35°C dan 37°C.

Uji sterilitas merupakan uji yang bertujuan untuk memastikan bahwa media yang digunakan tidak terkontaminasi dengan mikroorganisme lain. Pada penelitian yang telah dilakukan, diperoleh bahwa media yang akan digunakan merupakan media yang steril, hal ini dibuktikan dengan tidak ada pertumbuhan mikroorganisme baik bakteri maupun jamur.

Uji kualitas media atau uji kesuburan merupakan uji yang bertujuan untuk memastikan bahwa media yang digunakan dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri yang digunakan. Uji identifikasi memastikan bahwa bakteri yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli*. Identifikasi bakteri *Escherichia coli* dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu identifikasi secara mikroskopis dengan pewarnaan gram dan identifikasi dengan menguji sifat-sifat biokimia bakteri.

Identifikasi secara mikroskopis ditemukan bakteri gram (-) bacil (+) yang artinya bakteri berbentuk batang pendek lurus (kokobasil) berwarna merah. Hal ini sama dengan hasil yang telah dilakukan oleh Jaipah et al., (2017) yang menyatakan bahwa bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang pendek lurus atau disebut juga dengan kokobasil.

Pada penelitian ini untuk mempermudah melihat perbandingan jumlah koloni *Escherichia coli* dilakukan pembuatan suspensi. Pembuatan suspensi dilakukan dengan cara menyetarakan suspensi dengan standar MacFarlan 0,5 kemudian dilakukan pengenceran. Suspensi yang telah dibuat sesuai pengenceran  $10^2$  kemudian di tanam pada media *Plate Count Agar* dan diinkubasi pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$  dan  $37^{\circ}\text{C}$ .

Pada penelitian yang dilakukan, didapatkan hasil perhitungan jumlah koloni bakteri *Escherichia coli* pada media PCA dengan suhu inkubasi  $35^{\circ}\text{C}$  dan  $37^{\circ}\text{C}$  tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini dilihat dari rerata penanaman pada suhu inkubasi  $35^{\circ}\text{C}$  sebesar 24 CFU/mL dan  $37^{\circ}\text{C}$  sebesar 26 CFU/mL.

Menurut Permenkes (2013) syarat-syarat mikroba dapat tumbuh dengan baik dalam suatu media yaitu mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan oleh mikroba, memiliki tekanan osmose, tegangan muka dan pH yang sesuai. Mikroorganisme bakteri spesies *Escherichia coli* membutuhkan makanan dan nutrisi untuk tumbuh dan berkembang.

Menurut Brooks *et al* (2005) pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain nutrisi, temperatur (suhu), serasi, tekanan osmotik dan pH. Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh pada suhu  $10-40^{\circ}\text{C}$ . Pada penelitian yang dilakukan menggunakan suhu  $35^{\circ}\text{C}$  dan  $37^{\circ}\text{C}$  hal ini dikarenakan suhu  $35^{\circ}\text{C}$  dan  $37^{\circ}\text{C}$  merupakan suhu optimum dan suhu inkubasi yang sering digunakan di labortorium. Dan media *Plate Count Agar* merupakan media standar untuk menghitung jumlah koloni mikroorganisme.



Berdasarkan hasil yang di dapatkan, pada suhu 35°C dan 37°C tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Namun, pada suhu 33°C dan 37°C yang merupakan suhu optimum pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dengan media *MacConkey* yang merupakan media standar untuk pertumbuhan mikroorganisme tidak diketahui apakah ada perbedaan jumlah koloni yang ditanam pada suhu inkubasi tersebut.