



Biogenerasi Vol 11 No 2, 2026  
**Biogenerasi: Jurnal Pendidikan Biologi**  
Universitas Cokroaminoto Palopo  
<https://e-journal.my.id/biogenerasi>  
e-ISSN 2579-7085

---

**Analisis Coliform Pada Sampel Air Limbah Menggunakan Metode *Most Probable Number***

<sup>1</sup>Deka Wira Pratama, <sup>2</sup>Endang Sulistyarini Gultom

<sup>1,2</sup>Universitas Negeri Medan, Indonesia

\*Corresponding author E-mail: [dekawira54@gmail.com](mailto:dekawira54@gmail.com)

---

DOI : <https://doi.org/10.30605/emwhgg03>

Accepted : 1 Juni 2026    Approved : 13 Juni 2026    Published : 14 Juni 2026

**Abstract**

This study aimed to analyze the presence of coliform bacteria in wastewater samples using the Most Probable Number (MPN) method. Improperly treated wastewater can become a source of environmental pollution and facilitate the spread of pathogenic microorganisms. Lauryl Tryptose Broth (LTB) was used for the presumptive test, while Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) was used for the confirmed test. A total of 15 wastewater samples were analyzed to determine coliform bacterial. The results showed that most samples were contaminated with coliform bacteria, with MPN values ranging from less than 1.8 to more than 1600 MPN/100 mL. Several samples exhibited very high contamination levels, whereas others showed no detectable coliform presence. Variations in contamination levels were influenced by sanitation conditions, organic matter content, temperature, and wastewater source characteristics. Overall, most samples did not meet microbiological quality standards, indicating the need for improved wastewater management and environmental sanitation practices

**Keywords :** *Coliform, wastewater, Most Probable Number (MPN), microbiological contamination, water quality*

## PENDAHULUAN

Menurut Nur'aini et al. (2022), air merupakan sumber daya alam yang sangat penting bagi kehidupan manusia, baik untuk kebutuhan rumah tangga, pertanian, industri maupun kesehatan lingkungan. Air juga berfungsi sebagai media transportasi zat hara serta membantu menjaga keseimbangan ekosistem. Air limbah merupakan air buangan yang berasal dari kegiatan rumah tangga, industri, pertanian, maupun kegiatan lainnya yang telah mengalami penurunan kualitas. Air limbah biasanya mengandung bahan organik, bahan kimia, mikroorganisme patogen, dan zat berbahaya lainnya sehingga tidak dapat langsung digunakan tanpa pengolahan. Menurut Zahra (2023), air limbah dapat menyebabkan pencemaran lingkungan apabila dibuang langsung ke perairan tanpa proses pengolahan terlebih dahulu. Coliform merupakan kelompok bakteri gram negatif yang umum digunakan sebagai indikator kontaminasi mikrobiologis pada air dan air limbah karena kehadirannya berkaitan dengan kontaminasi fekal yang berpotensi membawa patogen lain. (Sebayang et al, 2025).

Metode Most Probable Number (MPN) merupakan teknik statistik untuk memperkirakan jumlah bakteri dalam sampel melalui uji kultur bertingkat yang menghasilkan angka estimasi jumlah organisme hidup per volume tertentu. Metode ini umumnya terdiri dari tiga tahap utama: uji pendugaan (presumptive test), uji penegasan (confirmed test), dan uji pelengkap (completed test). Tiap tahap dilakukan dengan media kultur khusus (misalnya Lactose Broth, Brilliant Green Lactose Broth) yang mampu mendeteksi fermentasi bakteri seperti Coliform yang ditandai oleh perubahan kekeruhan dan produksi gas di dalam tabung uji. Hasil MPN sering dinyatakan sebagai angka per 100 mL sampel air. (Ahmed et al, 2024).

Keunggulan utama LTB terletak pada sifat selektif dan diferensialnya yang mampu meningkatkan akurasi deteksi awal coliform, meskipun beberapa penelitian juga mencatat adanya kemungkinan hasil negatif palsu pada kondisi tertentu, terutama jika bakteri mengalami stres lingkungan. (Sari et al., 2019). Media BGLB mengandung pepton sebagai sumber nitrogen, laktosa sebagai sumber karbon yang dapat difermentasi oleh bakteri coliform, garam empedu (bile salts), serta zat

pewarna brilliant green. Kombinasi komponen ini menjadikan BGLB sebagai media selektif, karena mampu menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan sebagian besar bakteri non-coliform. (Ritonga et al, 2021).

## METODE

Penelitian ini menggunakan metode deskriptif kuantitatif dengan pendekatan laboratorium untuk mengetahui kandungan bakteri coliform pada sampel air limbah menggunakan metode Most Probable Number (MPN). Metode deskriptif digunakan untuk menggambarkan tingkat pencemaran mikrobiologis berdasarkan jumlah bakteri coliform yang ditemukan pada sampel air limbah.

Sampel penelitian berupa air limbah yang dianalisis di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Medan. Sampel penelitian berupa air limbah yang berasal dari kegiatan operasional perusahaan/industri, kemudian dianalisis di Laboratorium Kesehatan Masyarakat Medan. Sampel diambil dari saluran pembuangan limbah untuk diperiksa kualitas mikrobiologisnya berdasarkan jumlah bakteri coliform menggunakan metode MPN. Penelitian ini dilakukan pada tanggal 2 Februari – 10 Februari 2026 di Balai Laboratorium Kesehatan Masyarakat Medan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi botol sampel steril bertutup ulir, Biological Safety Cabinet (BSC), tabung reaksi steril, rak tabung reaksi, tabung Durham, pipet ukur 1 mL, bulb pipet, inkubator mikrobiologi suhu 35°C, spidol, alkohol 70%, dan tisu steril. Bahan yang digunakan yaitu sampel air limbah, media Lauryl Tryptose Broth (LTB), Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB), dan aquadest steril.

Sampel air limbah diambil secara aseptik menggunakan botol steril untuk menghindari kontaminasi dari lingkungan luar. Sampel kemudian dibawa ke Laboratorium Kesehatan Masyarakat Medan untuk dilakukan pemeriksaan mikrobiologis menggunakan metode Most Probable Number (MPN). Pengambilan sampel dilakukan sesuai prosedur laboratorium agar kualitas sampel tetap terjaga selama proses pengujian berlangsung.

### Prosedur Penelitian

#### a) Uji Pendugaan (Presumptive Test)

Sampel air limbah diinokulasikan ke

dalam media Lauryl Tryptose Broth (LTB) yang telah dilengkapi tabung Durham. Pengujian dilakukan pada tiga tingkat pengenceran yaitu 10, 100, dan 1000 dengan masing-masing lima tabung. Setiap tabung diinokulasikan sebanyak 1 mL sampel kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24–48 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas dan media tampak keruh.

**b) Uji Penegasan (Confirmed Test)**

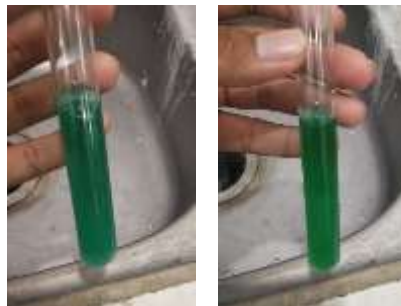
Biakan positif dari media LTB diinokulasikan ke media Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB) dengan tingkat pengenceran yang sama. Selanjutnya tabung

diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham dan media menjadi keruh.

**Analisis Data**

Data dianalisis secara deskriptif kuantitatif berdasarkan jumlah tabung positif pada setiap tingkat pengenceran. Kombinasi jumlah tabung positif dicocokkan dengan tabel indeks MPN untuk memperoleh nilai bakteri coliform dalam satuan MPN/100 mL sampel. Hasil kemudian ditabulasi dan dibandingkan dengan standar baku mutu air limbah yang berlaku.

**HASIL PENELITIAN**



Gambar 1. (a) Hasil positif (terdapat gelembung dan media tampak keruh) dan (b) Hasil negatif (tidak terdapat gelembung dan media tetap jernih).

Tabel 1 Tabel Hasil Pengujian Total Coliform Menggunakan Metode MPN

| Nomor Sampel | Uji Perkiraan | Uji Penegasan | Nilai(MPN/100mL) |
|--------------|---------------|---------------|------------------|
| 1            | 5/5/4         | 5/1/1         | 1100             |
| 2            | 5/5/5         | 5/4/5         | >1600            |
| 3            | 0/0/0         | 0/0/0         | <1,8             |
| 4            | 5/5/3         | 5/4/2         | 920              |
| 5            | 5/5/2         | 5/3/2         | 540              |
| 6            | 5/4/4         | 5/4/3         | 1600             |
| 7            | 5/5/5         | 5/5/5         | >1600            |
| 8            | 5/5/5         | 4/5/5         | >1600            |
| 9            | 5/4/2         | 5/3/1         | 350              |
| 10           | 5/5/1         | 5/4/1         | 240              |
| 11           | 5/5/5         | 2/1/0         | 9,2              |
| 12           | 0/0/0         | 0/0/0         | <1,8             |
| 13           | 0/0/0         | 0/0/0         | <1,8             |
| 14           | 4/4/2         | 4/3/2         | 280              |
| 15           | 5/4/5         | 5/4/4         | 3500             |

**Pembahasan**

Pengujian bakteri coliform pada sampel air limbah domestik dilakukan menggunakan metode Most Probable Number (MPN). Metode ini terdiri dari dua tahap, yaitu uji penduga memakai media Lauryl Tryptose Broth (LTB) dan uji penegasan menggunakan media Brilliant Green Lactose Bile Broth

(BGLB).(Sari et al,2019).

Media LTB berfungsi sebagai media awal untuk mendeteksi bakteri coliform karena mengandung laktosa yang dapat difermentasi sehingga menghasilkan gas. Sampel dimasukkan ke dalam media yang dilengkapi tabung Durham, lalu diinkubasi pada suhu sekitar 35–37°C selama 24–48

jam.(Rahmawati et al,2024). Terbentuknya gas pada satu atau lebih tabung Durham menunjukkan adanya aktivitas bakteri coliform yang mampu memfermentasi laktosa. Jumlah tabung yang menghasilkan gas pada setiap tingkat pengenceran kemudian digunakan untuk menentukan nilai MPN. Tidak semua tabung harus menghasilkan gas untuk menyatakan sampel positif, karena interpretasi didasarkan pada kombinasi jumlah tabung positif pada masing-masing seri pengenceran.Selain itu, kandungan sodium lauryl sulfate pada LTB membantu menghambat pertumbuhan bakteri non-coliform sehingga pengujian lebih selektif.

Tahap selanjutnya menggunakan media BGLB sebagai uji penegasan. Media ini mengandung pepton, laktosa, oxgall, dan brilliant green yang berfungsi menekan pertumbuhan bakteri selain coliform.(Sabila & Dyah,2023). Jika masih terbentuk gas setelah inkubasi, maka sampel dinyatakan positif mengandung bakteri coliform. Jumlah tabung yang menunjukkan hasil positif pada tiap pengenceran digunakan untuk menentukan nilai MPN sebagai perkiraan jumlah bakteri dalam sampel air limbah. Dengan demikian, metode MPN tidak hanya mendeteksi keberadaan coliform, tetapi juga memberikan gambaran tingkat pencemaran mikrobiologis pada air limbah.

#### **Interpretasi Hasil Uji Perkiraan (LTB)**

Berdasarkan hasil uji perkiraan pada tabel, sebagian besar sampel menunjukkan adanya pembentukan gas pada media lactose broth yang ditandai dengan angka positif tinggi seperti 5/5/5, 5/5/4, dan 5/5/3. Hasil tersebut menunjukkan adanya aktivitas bakteri koliform yang mampu memfermentasi laktosa sehingga menghasilkan gas. Semakin banyak tabung yang menunjukkan hasil positif, maka semakin tinggi dugaan jumlah bakteri koliform dalam sampel.

Pada sampel nomor 2, 7, 8, dan 11 diperoleh hasil 5/5/5 yang menunjukkan seluruh tabung pada setiap pengenceran positif. Hasil ini mengindikasikan tingkat kontaminasi bakteri koliform sangat tinggi. Sampel nomor 1, 4, 5, 6, 9, 10, 14, dan 15 juga menunjukkan hasil positif cukup tinggi, sehingga diduga masih terdapat cemaran bakteri koliform dalam jumlah besar meskipun lebih rendah dibandingkan pola 5/5/5.

Sementara itu, sampel nomor 3, 12, dan

13 menunjukkan hasil 0/0/0. Hasil tersebut berarti tidak ditemukan pembentukan gas pada seluruh tabung pengujian sehingga dinyatakan negatif koliform. Nilai MPN pada hasil 0/0/0 umumnya diinterpretasikan sebagai <3 MPN/100 mL atau negatif, tergantung tabel MPN yang digunakan. Kondisi ini dapat disebabkan oleh tidak adanya bakteri koliform dalam sampel, proses pengolahan yang baik, sanitasi yang memadai, atau jumlah bakteri yang terlalu sedikit sehingga tidak terdeteksi pada pengujian. Tingginya jumlah tabung positif pada tahap ini menunjukkan bahwa kepadatan bakteri dalam sampel relatif tinggi, terutama pada sampel 2,7 dan 8 yang menunjukkan seluruh tabung positif pada semua tingkat pengenceran. Hal ini mengindikasikan bahwa air limbah yang diuji mengandung bahan organik yang cukup tinggi sehingga mendukung pertumbuhan bakteri secara optimal. Namun demikian, hasil uji penduga belum dapat memastikan bahwa bakteri tersebut merupakan coliform sejati, sehingga diperlukan uji lanjutan menggunakan media selektif.

#### **Interpretasi Hasil Uji Penegasan (BGLB)**

Berdasarkan hasil uji penegasan, sebagian besar sampel menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya gas pada tabung Durham. Hasil positif tersebut menunjukkan adanya bakteri koliform yang mampu memfermentasi laktosa pada media penegasan. Semakin banyak tabung yang menunjukkan hasil positif, maka semakin besar dugaan jumlah bakteri koliform yang terdapat pada sampel.

Sampel nomor 2,8 dan 7 menunjukkan hasil 5/4/5 dan 5/5/5, yang menandakan hampir seluruh tabung pengujian memberikan reaksi positif. Kondisi ini menunjukkan tingkat kontaminasi bakteri koliform yang tinggi pada sampel tersebut. Sampel nomor 1, 4, 5, 6, 9, 10, 14, dan 15 juga menunjukkan hasil positif dengan variasi jumlah tabung yang menghasilkan gas, sehingga masih diindikasikan mengandung bakteri koliform.

Pada sampel nomor 11 diperoleh hasil 2/1/0. Hasil ini menunjukkan jumlah tabung positif lebih sedikit dibandingkan sampel lainnya, sehingga tingkat cemaran koliform diduga lebih rendah. Walaupun demikian, hasil tersebut tetap menandakan adanya bakteri koliform pada sampel.

Sementara itu, sampel nomor 3, 12, dan

13 menunjukkan hasil 0/0/0. Hasil tersebut diinterpretasikan sebagai negatif koliform karena tidak ditemukan pembentukan gas pada seluruh tabung pengujian. Tidak adanya reaksi positif dapat disebabkan oleh kondisi sampel yang lebih higienis, sanitasi yang baik, atau jumlah bakteri yang sangat sedikit sehingga tidak terdeteksi pada pengujian.

Secara keseluruhan, hasil uji penegasan menunjukkan bahwa sebagian besar sampel masih terkontaminasi bakteri koliform dengan tingkat cemaran yang berbeda-beda. Hal ini menandakan kualitas mikrobiologis beberapa sampel masih kurang baik dan dipengaruhi oleh faktor kebersihan serta kondisi lingkungan selama proses pengolahan atau penyimpanan.

#### **Analisis Nilai MPN dan Tingkat Pencemaran**

Nilai MPN digunakan untuk memperkirakan jumlah bakteri coliform dalam 100 mL sampel air. Semakin tinggi nilai MPN, maka semakin besar tingkat pencemaran yang terjadi. Pada sampel nomor 2, 7, dan 8 diperoleh nilai MPN >1600 MPN/100 mL. Hasil tersebut menunjukkan tingkat pencemaran yang sangat tinggi karena hampir seluruh tabung pada uji perkiraan maupun uji penegasan menunjukkan hasil positif. Kondisi ini mengindikasikan bahwa sampel mengandung bakteri coliform dalam jumlah besar sehingga kualitas sampel tergolong tidak memenuhi syarat secara mikrobiologis.

Sampel nomor 1, 4, 5, 6, 9, 10, 14, dan 15 juga menunjukkan adanya pencemaran bakteri coliform dengan nilai MPN yang cukup tinggi, yaitu berkisar antara 240 hingga 3500 MPN/100 mL. Tingginya nilai tersebut menandakan bahwa sampel telah terkontaminasi oleh mikroorganisme yang kemungkinan berasal dari limbah domestik, lingkungan yang kurang bersih, ataupun sanitasi yang buruk. Sementara itu, pada sampel nomor 3, 12, dan 13 diperoleh hasil 0/0/0 dengan nilai MPN <1,8 MPN/100 mL. Hasil ini menunjukkan bahwa tidak ditemukan pertumbuhan bakteri coliform pada seluruh seri tabung pengujian. Nilai tersebut menandakan tingkat pencemaran sangat rendah atau bahkan negatif terhadap bakteri coliform sehingga kualitas sampel relatif lebih baik dibandingkan sampel lainnya.

Secara keseluruhan, hasil analisis menunjukkan bahwa sebagian besar sampel

mengalami pencemaran bakteri coliform dengan tingkat yang berbeda-beda. Perbedaan nilai MPN dipengaruhi oleh jumlah tabung positif pada uji perkiraan dan uji penegasan. Semakin tinggi kombinasi tabung positif yang diperoleh, maka semakin besar nilai MPN dan semakin tinggi pula tingkat pencemaran mikrobiologis pada sampel tersebut.

#### **Faktor yang Mempengaruhi Hasil**

Perbedaan nilai MPN pada setiap sampel dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, seperti kandungan bahan organik, suhu, pH, dan kondisi sanitasi sumber limbah. Nilai MPN yang tinggi umumnya ditemukan pada limbah yang kaya bahan organik karena menyediakan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri coliform. Selain itu, suhu dan pH yang mendukung juga dapat meningkatkan jumlah bakteri. Sebaliknya, nilai MPN yang rendah dapat disebabkan oleh kondisi lingkungan yang kurang sesuai atau adanya proses pengenceran alami. Hal ini menunjukkan bahwa karakteristik sumber limbah berperan penting dalam tingkat pencemaran mikrobiologis.

Secara umum, hasil pengujian metode MPN menunjukkan bahwa tingkat cemaran bakteri coliform pada air limbah domestik bervariasi dari sedang hingga sangat tinggi. Semua sampel memberikan hasil positif pada uji penduga dan penegasan, yang menandakan adanya coliform dalam air limbah. Sebagian besar nilai MPN melebihi baku mutu yang ditetapkan, sehingga kualitas air limbah belum memenuhi standar lingkungan. Oleh karena itu, diperlukan pengelolaan limbah yang lebih baik untuk mengurangi pencemaran dan melindungi kesehatan masyarakat serta lingkungan.

#### **SIMPULAN DAN SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian, sebagian besar sampel air limbah yang diuji mengandung bakteri coliform dengan tingkat pencemaran yang berbeda-beda. Nilai MPN yang diperoleh menunjukkan bahwa beberapa sampel memiliki tingkat kontaminasi yang cukup tinggi, sedangkan beberapa sampel lainnya menunjukkan hasil negatif coliform. Hasil ini mengindikasikan bahwa kualitas mikrobiologis sebagian besar air limbah masih belum memenuhi standar yang baik. Metode MPN terbukti dapat digunakan untuk mendeteksi dan memperkirakan jumlah bakteri

coliform pada sampel air limbah.

Berdasarkan hasil penelitian, diperlukan peningkatan edukasi dan sosialisasi kepada masyarakat mengenai pengelolaan air limbah domestik yang baik untuk mencegah pencemaran bakteri coliform. Masyarakat perlu diberikan pemahaman tentang pentingnya penggunaan septic tank yang memenuhi standar, pengolahan limbah rumah tangga sebelum dibuang ke lingkungan, serta menjaga kebersihan saluran pembuangan. Selain itu, pemerintah atau instansi terkait diharapkan melakukan penyuluhan dan pemantauan kualitas air limbah secara berkala guna meningkatkan kesadaran masyarakat terhadap sanitasi lingkungan. Penelitian selanjutnya disarankan untuk menguji parameter mikrobiologi dan kualitas air lainnya agar diperoleh informasi yang lebih komprehensif.

#### DAFTAR RUJUKAN

- Ahmed, T., Baidya, S., Acharjee, M., & Rahman, T. (2013). Qualitative analysis of drinking water through the most probable number (MPN) method. *Stamford Journal of Microbiology*, 3(1), 9-16.
- Nazilah, L. (2025). Uji kualitas air minum rebus terhadap bakteri Coliform dengan metode MPN (Most Probable Number) Desa Penataban-Banyuwangi. *Jurnal Biosense : Jurnal Penelitian Biologi dan Terapannya*, 8(3), 399-406.
- Nur'aini, S., Arsyad, F. S., Setyabudidaya, D., Soerya, B., & Sari, B. R.L. (2023). Review sifat-sifat dan karakteristik fotokatalitik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/ SiO<sub>2</sub>/ TiO<sub>2</sub> untuk mengatasi polusi air. *Jurnal Penelitian Sains*, 25(2).
- Rahmawati, Dian, W., Dwi, S., Bayu, K. (2024). Analisis Most Probable Number (MPN) Coliform dan Escherichia coli Pada Air Sumur Bor di Pemukiman Warga Kelurahan Pucangsawit Surakarta. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*, 23 (2) : 146 – 152.
- Ritonga, I. Y., Rahayu, M. S., & Sofia, R. (2021). Analisis Cemaran Bakteri Coliform pada Minuman Es Sirup Menggunakan Metode Most Probable Number (MPN) di SDN Kecamatan Banda Sakti Lhokseumawe. *Jurnal Kesehatan Almuslim*, 7(2), 12-16.
- Sabila, N. & Dyah, S. (2023). Analisis Coliform dan Colifecal pada Air dari Berbagai Sumber Menggunakan Metode MPN (Most Probable Numbers). *Jurnal Kimia dan Rekayasa*, 3(2) : 54-60.
- Sari, D., Rahmawati, Elvi, R. (2019). Deteksi dan Identifikasi Genera Bakteri Coliform Hasil Isolasi dari Minuman Lidah Buaya. *Jurnal Labora Medika*. 3 (1) : 29-35.
- Sebayang, A. A., Aritonang, C., Silaban, M. O., & Arwita, W. (2025). Analisis cemaran bakteri coliform pada air limbah domestik dengan metode MPN. *BIO-CONS: Jurnal Biologi dan Konservasi*, 7(1).
- Zahra, J. A. (2023). Analisis Sifat Fisika dan Kimia Air Sungai Tempuran Langsur-Samin pada Tata Guna Lahan yang Berbeda. *Jurnal Ekosains*, XV(1), 1.