

IDENTIFIKASI DAN PENEGASAN BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* MENGGUNAKAN UJI PCR PADA AIR MANDI DI PONDOK PESANTREN X PENYEBAB GATAL PADA SANTRI

Widyasti Septi Ananda^{1*}, Rina Nurmaulawati², Nurrizka Kurniawati³
Program Studi Farmasi, STIKes Bhakti Husada Mulia Madiun, Indonesia^{1,2,3}

Email¹: anandawidyastiseptiananda@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam air mandi di Pondok Pesantren X dan mengevaluasi hubungannya dengan gejala gatal yang dialami santri. Metode yang digunakan adalah analisis deskriptif dengan pendekatan kuantitatif, mencakup pengambilan sampel air dari tandon dan bak mandi untuk diuji menggunakan beberapa teknik, termasuk uji fisik, uji pH, pewarnaan Gram, uji biokimia (TSIA, SIM, dan Katalase), serta uji PCR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 18 sampel yang diuji, air mandi dari Kamar Mandi 1 dan Tandon 1 terdeteksi mengandung *Pseudomonas aeruginosa*, dengan hasil positif pada uji PCR. Selain itu, uji fisik menunjukkan karakteristik air yang keruh dan berbau, sementara uji pH menunjukkan nilai yang melebihi batas normal. Pewarnaan Gram mengidentifikasi bakteri berbentuk batang berwarna merah muda, dan uji biokimia mengonfirmasi hasil negatif untuk H₂S dan indol, tetapi positif untuk motilitas dan katalase. Analisis menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara keberadaan bakteri ini dan keluhan gatal yang dialami oleh santri, yang dapat disebabkan oleh infeksi kulit akibat bakteri tersebut. Kesimpulan dari penelitian ini menegaskan bahwa kualitas air mandi di Pondok Pesantren X perlu diperhatikan untuk mencegah potensi infeksi. Upaya pencegahan dan pengendalian bakteri patogen di lingkungan pesantren sangat penting untuk menjaga kesehatan santri.

Kata Kunci: *Pseudomonas aeruginosa*, identifikasi, pcr, air mandi, pondok pesantren

ABSTRACT

This study aims to identify the presence of Pseudomonas aeruginosa bacteria in bathing water at Islamic boarding school X and evaluate its relationship with the itching symptoms experienced by students. The method used is descriptive analysis with a quantitative approach, including sampling water from tanks and baths for testing using several techniques, including physical tests, pH tests, Gram staining, biochemical tests (TSIA, SIM, and Catalase), and PCR tests. The results showed that out of 18 samples tested, bath water from Bathroom 1 and Tank 1 was found to contain Pseudomonas aeruginosa, with positive results in the PCR test. In addition, physical tests showed that the water was cloudy and smelly, while pH tests showed values exceeding normal limits. Gram staining identified pink-colored rod-shaped bacteria, and biochemical tests confirmed negative results for H₂S and

indole, but positive results for motility and catalase. The analysis shows a significant relationship between the presence of these bacteria and the itching complaints experienced by the students, which may be caused by skin infections due to these bacteria. The conclusion of this study confirms that the quality of bathing water at Pondok Pesantren X needs to be addressed to prevent potential infections. Efforts to prevent and control pathogenic bacteria in the pesantren environment are very important for maintaining the health of the students.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa, identification, pcr, bath water, islamic boarding scholl*

PENDAHULUAN

Bakteri adalah mikroba bersel tunggal yang berukuran mikroskopis dan dapat hidup secara mandiri, sebagai parasit, atau pengurai. Mereka berkembang biak dengan cara membelah diri dan dapat menyebabkan penyakit pada manusia, hewan, dan tumbuhan. Berdasarkan cara menyerap pewarna, bakteri dibagi menjadi dua kelompok, yaitu gram positif dan gram negatif. Bakteri gram positif berwarna ungu karena zat pewarna violet-iodin tetap terjaga, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah karena zat pewarna tersebut hilang setelah terkena alkohol dan kemudian menyerap safranin. Perbedaan warna ini disebabkan oleh struktur dinding sel masing-masing kelompok bakteri (1).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram-negatif yang aerobik dan motil, hidup di tanah, air laut, dan air tawar. Bakteri ini sering ditemukan di rumah dan klinik, serta dapat mengkolonisasi tanaman dan hewan. Mereka dapat menyebabkan penyakit pada manusia sehat, termasuk infeksi mata dan kulit, serta infeksi serius pada pasien luka bakar dan individu dengan gangguan kekebalan tubuh. *Pseudomonas* merupakan penyebab utama infeksi oportunistik, menyerang lebih dari 2 juta pasien setiap tahun dan membunuh sekitar 90 ribu orang (2).

Penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* berhubungan signifikan dengan gejala gatal pada penderita infeksi kulit. Hasil pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun brotowali (*Tinospora cordifolia*) pada konsentrasi berbeda menunjukkan diameter daya hambat terhadap *Pseudomonas aeruginosa* (3). Penelitian lain juga membuktikan hubungan signifikan antara *Pseudomonas aeruginosa* dan gejala gatal pada kulit (4). Oleh karena itu, identifikasi bakteri

Pseudomonas aeruginosa perlu dilakukan melalui isolasi, pewarnaan gram, uji biokimia, dan teknik *polymerase chain reaction* (PCR).

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama beberapa bulan dengan lokasi awal di Pondok Pesantren X, tempat di mana sampel air mandi diambil. Setelah proses pengambilan sampel, semua air yang telah dikumpulkan dibawa ke laboratorium mikrobiologi di STIKes Bhakti Husada Mulia Madiun untuk analisis yang lebih mendalam.

Alat

Alat-alat laboratorium yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Autoklaf, Bunsen, Neraca Analitik, Kertas Timbang, Erlenmeyer, Batang Pengaduk, Cawan Petri, Tabung Reaksi, pH Meter, Lamina Air Flow, Gelas Ukur, Bunsen, Rak Tabung, Mikroskop, Jarum Ose.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akuades, alkohol 70%, media *Mac Conkey Agar* (MCA), media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media *Sulfide Indol Motility* (SIM), Reagen Kovacs, H₂O₂, dan Pewarnaan Gram (Kristal violet, lugol, dan carbol fuchsin).

Prosedur Penelitian

Pengambilan Sampel Air Mandi dari Tandon dan Bak Mandi

Untuk melakukan pengambilan sampel air mandi dalam penelitian, langkah-langkah yang dapat diikuti adalah. Pertama, siapkan semua alat yang diperlukan, termasuk wadah sampel yang harus dalam keadaan bersih. Selanjutnya, siapkan kertas label untuk menandai tanggal, lokasi, waktu, dan jenis sampel. Tentukan lokasi pengambilan sampel di tandon dan bak mandi putri, memastikan pengambilan dilakukan di satu lokasi untuk masing-masing, dengan replikasi yang sama. Ambil sekitar 1 liter air dari setiap sumber sesuai jumlah kamar mandi, lalu isi wadah hingga penuh tanpa ada gelembung udara dan tutup rapat. Terakhir, catat informasi penting seperti tanggal, waktu, lokasi, dan jenis sampel (5).

Uji Fisik Air

Amati warna air menggunakan indera penglihatan dan catat apakah air berwarna jernih, keruh, atau memiliki warna tertentu. Cium bau air untuk menentukan apakah ada bau yang tidak sedap atau mencurigakan. Jika perlu, lakukan uji rasa dengan sedikit mencicipi air, namun pastikan ini aman dilakukan (6).

Uji Ph Air Mandi

Pengujian pH air dilakukan menggunakan pH meter digital yang telah dikalibrasi. Sampel air diambil dan ditempatkan dalam wadah bersih, kemudian elektroda pH meter dicelupkan ke dalam sampel. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang dan diulang minimal tiga kali untuk memperoleh hasil yang akurat (7).

Pengenceran Sampel Air Mandi

Pengenceran dilakukan dengan perbandingan 1:9 untuk sampel dan pengenceran pertama, sehingga setiap pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisme dari sebelumnya. Siapkan tabung steril berisi 9 mL Aquades, tambahkan 1 mL sampel ke tabung pertama (10^{-1}), homogenkan, lalu ambil 1 mL ke tabung kedua (10^{-2}) dan homogenkan lagi. Ulangi hingga pengenceran terakhir, mengganti pipet steril setiap kali. Dari setiap pengenceran, ambil 0,1 mL dan inokulasikan ke media MCA dengan metode spread plate (8).

Isolasi Bakteri

Pembuatan Media *Mac Conkey Agar* (MCA)

Siapkan bahan seperti bubuk MCA, aquadest, dan peralatan lab. Timbang 18,72 gram bubuk MCA untuk 360 mL, campur dengan aquadest, dan panaskan. Tuang ke cawan petri, sterilkan dalam autoklaf selama 20 menit pada 121°C , lalu biarkan mengeras. Ambil 0,1 mL suspensi bakteri, ratakan di media, dan inkubasi pada 37°C selama 24 jam. Amati koloni *Pseudomonas aeruginosa* biasanya tidak berwarna atau keruh, kadang berwarna hijau atau biru karena pigmen piocyanin (9).

Pewarnaan Gram

Pertama, teteskan Karbol Gentian Violet pada glass objek berisi sampel, biarkan selama 1 menit, dan bilas dengan air mengalir pelan-pelan. Selanjutnya, teteskan Lugol dan biarkan selama 1 menit, kemudian buang Lugol dan siram glass objek dengan alkohol 70%/96% selama 10–30 detik untuk melunturkan cat, lalu

bilas dengan air. Setelah itu, tuang Safranin selama 1 menit, cuci dengan air mengalir pelan-pelan, dan keringkan. Terakhir, amati dengan mikroskop pada pembesaran 40x dan 100x dengan minyak imersi (10).

Uji Biokimia

Uji Biokimia (TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*) dan SIM (*Sulfide Indol Motility*))

Siapkan bahan seperti bubuk TSIA, aquades, dan alat sterilisasi. Timbang 7,8 gram bubuk TSIA untuk 120 mL, campurkan dengan aquades, dan panaskan hingga mendidih. Tuang ke tabung reaksi (20 mL), miringkan hingga mengeras, lalu sterilkan dalam autoklaf selama 20 menit. Inokulasi koloni bakteri dari media MCA dengan metode tusuk dan streak. Hasil TSIA menunjukkan *slant* dan *butt* berwarna merah, menandakan *Pseudomonas aeruginosa* tidak menggunakan gula. Untuk uji SIM, campurkan 3,6 gram bubuk SIM per 20 mL, inokulasi koloni bakteri, tambahkan Reagen Kovac's, dan inkubasi pada 37°C. Hasilnya, *Pseudomonas aeruginosa* tidak memproduksi H₂S dan indol, tetapi menunjukkan motilitas positif (9).

Uji Katalase

Panaskan jarum ose di atas api Bunsen hingga ujungnya berwarna merah menyala, lalu biarkan hingga suhu menurun. Panaskan bibir cawan petri berisi media MCA dengan api Bunsen, lalu ambil sedikit koloni bakteri menggunakan jarum ose. Fiksasi objek gelas dengan api Bunsen, dan oleskan koloni bakteri pada objek gelas dengan teknik memutar agar merata. Teteskan larutan H₂O₂ pada objek gelas dan amati munculnya gelembung yang terbentuk (9).

Uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Ekstraksi bakteri dimulai dengan mempersiapkan alat dan bahan, serta sampel dari kamar mandi dan tandon yang telah diinkubasi di media *Mac Conkey*. Tambahkan 600 µL Nuclei Lysis Solution dan campurkan menggunakan pipet, kemudian inkubasi selama 5 menit pada suhu 80°C dan biarkan dingin ke suhu ruang. Tambahkan 3 µL RNase Solution dan inkubasi pada 37°C selama 15-60 menit. Selanjutnya, tambahkan 200 µL protein precipitation Solution dan vortex. Inkubasi di freezer selama 5 menit, lalu sentrifuge selama 3 menit pada 13.000-16.000 x g. Pindahkan supernatant dan tambahkan 600 µL isopropanol, campurkan, lalu buang cairan bening di atasnya. Tambahkan 600 µL etanol 70%, campurkan,

dan sentrifuge selama 2 menit. Buang cairan bening dan biarkan endapan selama 10-15 menit. Tambahkan 100 μ L Rehydrate Solution dan inkubasi selama 1 jam pada 65°C atau 24 jam pada 4°C. Untuk PCR, masukkan 0,33 g agarose ke dalam 20 mL TBE dan panaskan hingga 180°C, lalu tuangkan ke cetakan agar hingga memadat. Siapkan pengenceran primer dengan perbandingan 1:8, menggunakan 1 μ L primer dan 40 μ L NFW. Masukkan 10 μ L sampel ekstraksi ke dalam eppendorf kecil, tambahkan 5 μ L primer masing-masing, 9 μ L Green Taq, dan 14 μ L NFW. Disentrifuge dan divortex, lalu masukkan ke dalam “Mini PCR” dan jalankan sesuai dengan genus atau spesies yang diamati. Setelah selesai, lakukan elektroforesis dengan mencampurkan air TBE dan agar PCR, kemudian masukkan 8 μ L sampel. Tutup dan timer selama 15 menit, lalu amati hasilnya (11).

HASIL DAN PEMBAHASAN

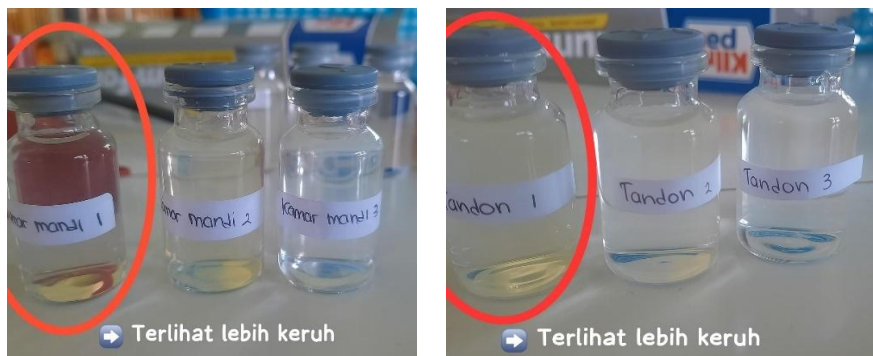
Uji Fisik Air

Hasil pengamatan uji fisik air dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 1. Hasil Uji Fisik Air

No	Sampel	Warna	Bau	Rasa
1	Kamar Mandi 1	Keruh	Bau Menyengat	Asin
2	Kamar Mandi 2	Jernih	Tidak Berbau	Tidak Ada
3	Kamar Mandi 3	Jernih	Tidak Berbau	Tidak Ada
4	Tandon 1	Keruh	Bau Menyengat	Asin
5	Tandon 2	Jernih	Tidak Berbau	Tidak Ada
6	Tandon 3	Jernih	Tidak Berbau	Tidak Ada

Hasil uji fisik air menunjukkan bahwa Kamar Mandi 1 dan Tandon 1 memiliki warna keruh, bau menyengat, dan rasa asin, yang mengindikasikan kemungkinan kontaminasi. Dampak dari kualitas air yang buruk dapat berpengaruh negatif terhadap kesehatan, terutama jika digunakan untuk keperluan sehari-hari. Berikut adalah gambar yang menunjukkan kondisi air di Kamar Mandi 1 dan Tandon 1, yang memperjelas masalah kualitas air yang terdeteksi.



a. Uji Fisik Air Kamar Mandi

Uji Fisik Air Tandon

Gambar 1. Pengamatan Uji Fisik Air

Uji pH

Uji ini bertujuan untuk mengevaluasi kualitas air dan memastikan keamanannya untuk kesehatan. Hasil uji pH menunjukkan bahwa Kamar Mandi 1 memiliki pH tertinggi, yaitu 9,01, melebihi batas normal (6,5–8,5). Tandon 1 juga menunjukkan nilai tinggi, yaitu 10,1. Air dengan pH tinggi yang bersifat basa dapat menyebabkan iritasi pada kulit dan memperburuk kesehatan santri. Hal ini penting diperhatikan, mengingat rekomendasi Menteri Kesehatan Republik Indonesia (2017) yang menyatakan pH untuk kebersihan sanitasi, termasuk mandi, sebaiknya berada dalam rentang 6,5-8,5 (6).

Tabel 2. Hasil Uji pH

No	Sampel	pH			Rata-Rata Ph
		Replikasi 1X	Replikasi 2X	Replikasi 3X	
1	Kamar Mandi 1	9,1	9,1	9,0	9,01
2	Kamar Mandi 2	8,4	8,4	8,3	8,4
3	Kamar Mandi 3	8,0	8,1	8,0	8
4	Tandon 1	10,2	10,0	10,0	10,1
5	Tandon 2	7,5	7,4	7,3	7,4
6	Tandon 3	8,3	8,2	8,0	8,2

Morfologi Koloni Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*

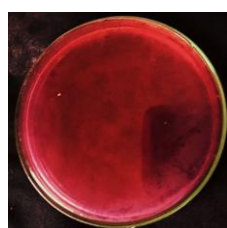
Hasil Inkubasi Pada Media MCA (*Mac Conkey Agar*)

Inokulasi dilakukan pada Media *Mac Conkey Agar* (MCA) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. MCA dipilih karena merupakan media selektif diferensial untuk isolasi dan identifikasi bakteri gram negatif, khususnya anggota *Enterobacteriaceae* dan genus *Pseudomonas*. Berdasarkan hasil pengamatan koloni yang tercantum dalam Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Inkubasi Pada Media MCA (*Mac Conkey Agar*)

No	Sampel	Karakteristik Koloni			Keterangan
		Replikasi 1X	Replikasi 2X	Replikasi 3X	
1	Kamar Mandi 1	Terdapat koloni berwarna krem hingga kekuningan	Terdapat koloni berwarna krem hingga kekuningan	Terdapat koloni berwarna krem	Positif
2	Kamar Mandi 2	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Negatif
3	Kamar Mandi 3	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Negatif
4	Tandon 1	Terdapat koloni berwarna hijau	Terdapat koloni berwarna krem hingga kekuningan	Terdapat koloni berwarna krem hingga kekuningan	Positif
5	Tandon 2	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Negatif
6	Tandon 3	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Tidak Terdapat koloni	Negatif

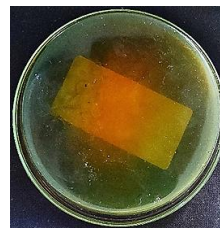
Kamar Mandi 1 dan Tandon 1 menunjukkan pertumbuhan koloni berwarna krem, hijau, dan kekuningan, mengindikasikan kemungkinan positif terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Sebaliknya, Kamar Mandi 2, Kamar Mandi 3, serta Tandon 2 dan Tandon 3 tidak menunjukkan koloni, dengan warna media tetap merah, menandakan hasil negatif. Warna kuning dan hijau pada media disebabkan oleh pigmen yang diproduksi bakteri, seperti pyocyanin (biru-hijau) dan pyoverdine (kuning-hijau) (12). Keterangan lebih lanjut dapat dilihat pada Gambar 2.



Hasil inkubasi yang tidak ditumbuhi koloni bakteri



Hasil inkubasi kamar mandi 1



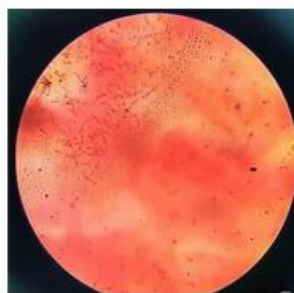
Hasil inkubasi tandon 1

Gambar 2. *Pseudomonas aeruginosa* pada media *Mac Conkey Agar*

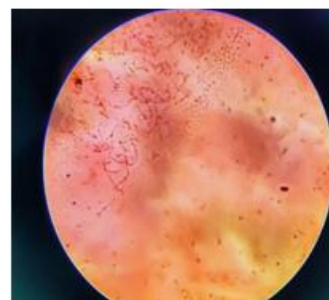
Pewarnaan Gram

Dari 18 sampel yang diinkubasi, hanya Kamar Mandi 1 dan Tandon 1 (replikasi 1, 2, dan 3) yang terdeteksi mengandung koloni bakteri positif. Selanjutnya, dilakukan pewarnaan untuk mengetahui jenis bakteri yang tumbuh pada media sampel kamar mandi 1 dan Tandon 1. Hasil pewarnaan menunjukkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* berwarna merah muda dan berbentuk basil. Secara mikroskopis, bakteri ini termasuk gram negatif dan dapat muncul tunggal, berpasangan, atau dalam rantai pendek (9). Bakteri gram negatif tidak dapat mempertahankan warna kristal violet pada pewarnaan Gram, sehingga tampak

merah muda, berbeda dengan bakteri gram positif yang berwarna biru keunguan. Perbedaan ini disebabkan oleh lapisan peptidoglikan yang tipis pada dinding sel bakteri gram negatif, yang memudahkan pelepasan kristal violet dan penyerapan safranin (13). Menurut jurnal warna merah muda pada gram negatif terjadi karena lipid dalam dinding sel larut saat pencucian dengan alkohol, menyebabkan kehilangan kristal violet dan penyerapan safranin (10).



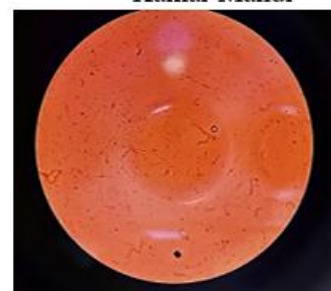
a. Pembesaran 40x
Kamar Mandi



b. Pembesaran 100x
Kamar Mandi



a. Pembesaran 40x
Tandon



b. Pembesaran 100x
Tandon

Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram Pembesaran 40x dan 100x

Uji Biokimia Bakteri

Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Hasil identifikasi TSIA pada bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa bagian slant dan butt pada media TSIA keduanya berwarna merah(14). Bagian *slant* adalah permukaan miring dari agar yang digunakan untuk mengamati fermentasi karbohidrat, sedangkan *butt* adalah bagian bawah tabung yang tetap tegak (15). Warna merah pada kedua bagian ini mengindikasikan bahwa bakteri tersebut tidak mampu memfermentasi karbohidrat dan tidak mampu memproduksi gas atau H₂S(16). Hal ini dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 4.

Tabel 4. Hasil Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Sampel	Hasil			Keterangan
	Replikasi 1X	Replikasi 2X	Replikasi 3X	
Kamar Mandi 1	Berwarna merah	Berwarna merah	Berwarna merah	Tidak terjadi perubahan warna dan tidak terlihat adanya gas
Tandon 1	Berwarna merah	Berwarna merah	Berwarna merah	Tidak terjadi perubahan warna dan tidak terlihat adanya gas



a. Hasil Uji TSIA Kamar Mandi



b. Hasil Uji TSIA Tandon

Gambar 4. Hasil Uji TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Keterangan:

- Hasil Uji TSIA: *Pseudomonas aeruginosa* tidak memfermentasi gula, ditunjukkan dengan bagian *slant* (permukaan miring agar) dan *butt* (bagian bawah tabung) berwarna merah tidak berubah.
- Produksi Gas dan H₂S: Warna merah pada kedua bagian ini menandakan bahwa bakteri tidak memproduksi gas atau H₂S.

Uji SIM (*Sulfide Indol Motility*)

Uji SIM (*Sulfide Indol Motility*) terdiri dari tiga pengujian. Pertama, uji sulfur (H₂S) bertujuan untuk mengukur kemampuan bakteri dalam menghasilkan H₂S (17). Kedua, uji indol digunakan untuk mengetahui keberadaan enzim triptofanase yang dapat menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat (17). Terakhir, uji motility bertujuan untuk mengonfirmasi apakah mikroorganisme yang diuji memiliki flagel sebagai alat gerak. Hasil dari uji SIM pada sampel yang diuji dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 5.

Tabel 5. Hasil Uji SIM (Sulfide Indol Motility)

Sampel	Replikasi	Hasil		
		H ₂ S	Indol	Motilitas
Kamar Mandi 1	1X	Negatif (Tidak terbentuk warna hitam pada media)	Negatif (Tidak terbentuk cincin merah setelah penambahan reagen Kovac)	Positif (Terlihat adanya penyebaran kekeruhan dari garis tusukan ose pada media)
	2X	Negatif (Tidak terbentuk warna hitam pada media)	Negatif (Tidak terbentuk cincin merah setelah penambahan reagen Kovac)	Positif (Terlihat adanya penyebaran kekeruhan dari garis tusukan ose pada media)
	3X	Negatif (Tidak terbentuk warna hitam pada media)	Negatif (Tidak terbentuk cincin merah setelah penambahan reagen Kovac)	Positif (Terlihat adanya penyebaran kekeruhan dari garis tusukan ose pada media)
Tandon 1	1X	Negatif Tidak terbentuk warna hitam pada media)	Negatif (Tidak terbentuk cincin merah setelah penambahan reagen Kovac)	Positif (Terlihat adanya penyebaran kekeruhan dari garis tusukan ose pada media)
	2X	Negatif Tidak terbentuk warna hitam pada media)	Negatif (Tidak terbentuk cincin merah setelah penambahan reagen Kovac)	Positif (Terlihat adanya penyebaran kekeruhan dari garis tusukan ose pada media)
	3X	Negatif Tidak terbentuk warna hitam pada media)	Negatif (Tidak terbentuk cincin merah setelah penambahan reagen Kovac)	Positif (Terlihat adanya penyebaran kekeruhan dari garis tusukan ose pada media)



a. Hasil Uji SIM Kamar Mandi



b. Hasil Uji SIM Tandon

Gambar 5. Hasil Uji (Sulfide Indol Motility)

Keterangan:

- Uji Produksi Sulfida (H₂S): Negatif (*Pseudomonas aeruginosa* tidak menunjukkan warna hitam, menandakan tidak ada reaksi dengan besi (Fe) dan tidak dapat menghasilkan H₂S).
- Uji Indol: Negatif (Menunjukkan tidak ada formasi cincin merah, artinya bakteri ini tidak dapat mengubah triptofan menjadi indol).
- Uji Motilitas: Positif (Pertumbuhan koloni yang menyebar dan media keruh menunjukkan *Pseudomonas aeruginosa* memiliki kemampuan motilitas yang baik).

Uji Katalase

Uji Katalase bertujuan untuk mengonfirmasi apakah mikroorganisme dapat memecah H_2O_2 menjadi oksigen (18). Hasil positif ditandai dengan munculnya gelembung udara setelah bakteri ditetesi larutan H_2O_2 , sedangkan hasil negatif tidak menunjukkan gelembung (9). Dalam penelitian ini, *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan hasil positif, terlihat dari gelembung gas yang muncul akibat reaksi enzim katalase dengan hidrogen peroksida (H_2O_2) (12). Hasil dari uji katalase pada sampel yang diuji dapat dilihat pada Tabel 6 dan Gambar 6.

Tabel 6. Hasil Uji Katalase

Sampel	Hasil			Keterangan
	Replikasi 1X	Replikasi 2X	Replikasi 3X	
Kamar Mandi 1	Positif	Positif	Positif	Menghasilkan gelembung gas
Tandon 1	Positif	Positif	Positif	Menghasilkan gelembung gas



a. Hasil Uji Katalase Kamar Mandi



b. Hasil Uji Katalase Tandon

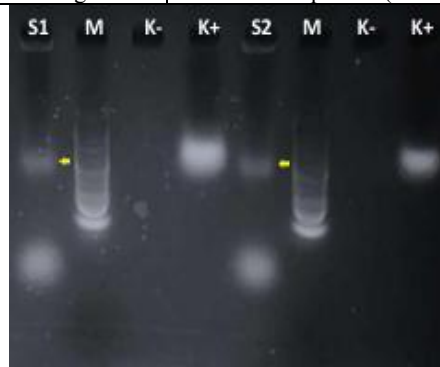
Gambar 6. Hasil Uji Katalase

Uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Uji terakhir adalah PCR (*Polymerase Chain Reaction*), yang bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan *Pseudomonas aeruginosa* secara cepat dalam sampel air mandi di Pondok Pesantren X. Teknik PCR diharapkan dapat menegaskan identifikasi spesies ini, yang berpotensi menyebabkan gejala gatal pada santri. Hasil positif (+) ditunjukkan dengan terdeteksinya pita DNA pada ukuran yang diharapkan untuk gen *oprL*, mengonfirmasi keberadaan *Pseudomonas aeruginosa*. Sebaliknya, hasil negatif (-) ditandai dengan tidak adanya pita, menunjukkan bahwa sampel tidak mengandung DNA bakteri tersebut (19). Hasil uji PCR dari sampel yang diuji telah disajikan pada Tabel 7 dan Gambar 7. Hasil penelitian menunjukkan positif pada uji PCR untuk *Pseudomonas aeruginosa*, ditandai dengan pita DNA bercahaya pada Sampel 1 Kamar Mandi 1 dan Sampel 2 Tandon 1, sesuai ukuran standar marker DNA. Aquadest (K-) menunjukkan hasil negatif tanpa pita, mengonfirmasi keberhasilan proses PCR.

Tabel 7. Hasil Uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

Sampel	Hasil	Keterangan
Kamar Mandi 1	Positif	Mengandung DNA <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Tandon 1	Positif	Mengandung DNA <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Kontrol Positif (K+)	Positif	Kontrol isolat <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Kontrol Negatif (K-)	Negatif	Aquadest (tidak mengandung DNA)



Gambar 1. Hasil Uji PCR (*Polymerase Chain Reaction*)

KESIMPULAN

Penelitian ini berhasil menemukan *Pseudomonas aeruginosa* dalam sampel air mandi di Pondok Pesantren X, terdeteksi melalui media *Mac Conkey Agar*, menunjukkan potensi kontaminasi bakteri patogen. Uji PCR juga menunjukkan hasil positif, mengonfirmasi keberadaan bakteri tersebut dengan metode yang sensitif dan akurat. Terdapat hubungan antara keberadaan *Pseudomonas aeruginosa* dan gejala gatal yang dialami santri, yang mengeluhkan rasa gatal dan iritasi kulit setelah menggunakan air mandi tersebut. Dengan demikian, bakteri ini berperan dalam masalah kesehatan kulit di lingkungan pesantren.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rois Arifin AIHC. Pengantar Bakteriologi. Angewandte Chemie International Edition, 6(11), 951–952. 2023. 315 P.
2. Li X, Gu N, Huang TY, Zhong F, Peng G. *Pseudomonas Aeruginosa*: A Typical Biofilm Forming Pathogen And An Emerging But Underestimated Pathogen In Food Processing. *Front Microbiol.* 2023;13:1–8.
3. Herdini H, Bahri SB, Natasya Y. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Brotowali (*Tinospora Cordifolia* (Willd.) Miers Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *J Penelit Dan [Internet].* 2024;34(2):31–8. Available From: <https://ejournal.istn.ac.id/index.php/sainstech/article/view/2040>
4. Meylina KF. *Jurnal Kesehatan Republik Indonesia.* 2023;1(1):19–26.
5. Choirul A. Metode Pengambilan Contoh Uji Air. *Poltekkesjoga.* 2017;1–27.
6. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2017 Tentang Standar Baku Mutu

- Kesehatan Lingkungan Dan Persyaratan Kesehatan Air Untuk Keperluan Higiene Sanitasi, Kolam Renang, Solus Per Aqua Dan Pemandian Umum. Peratur Menteri Kesehat Republik Indones. 2017;1–20.
7. Angka KKD. Kabupaten Kampar. Wikipedia [Internet]. 2021;4(2):58–68. Available From: https://id.wikipedia.org/wiki/Kabupaten_Kampar, Diakses 12 September 2016
 8. Sabila N, Setyaningrum D. Analisis Coliform Dan Colifecal Pada Air Dari Berbagai Sumber Menggunakan Metode MPN (Most Probable Numbers). *J Kim Dan Rekayasa*. 2023;3(2):54–60.
 9. Seftiwan Pratami Djasfar, Pradika Y. Identifikasi Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial (*Pseudomonas Aeruginosa*) Pada Lantai Intensive Care Unit (Icu). *J Med Lab*. 2023;2(1):9–19.
 10. Amin SS, Ghozali TZ, Efendi MRS. Identifikasi Bakteri Dari Telapak Tangan Dengan Pewarnaan Gram. *Chemviro J Kim Dan Ilmu Lingkung*.
 11. Ummah MS. Log Book Ekstraksi Bakteri. *Sustain* [Internet]. 2019;11(1):1–14. *Sistem Pembedungan Terpusat Strategi Melestari*
 12. Juniawan MF, Artanti D, Gayatri Y, Ainutajriani A. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termofilik Dari Oil Sludge Asal Kalimantan Timur. *J Muhammadiyah Med Lab Technol*. 2023;6(1):18.
 13. Wulansari A, Aqlinia M, Wijanarka, Raharjo B. Isolasi Bakteri Endofit Dari Tanaman Bangle (*Zingiber Cassumunar Roxb.*) Dan Uji Aktivitas Antibakterinya Terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Kulit *Staphylococcus Epidermidis* Dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Lab Bioteknol Dep Biol Fak Sains Dan Mat Univ Diponegoro*. 2019;2(2):25–36.
 14. Sianipar GWS, Sartini S, Riyanto R. Isolasi Dan Karakteristik Bakteri Endofit Pada Akar Pepaya (*Carica Papaya L.*). *J Ilm Biol UMA*. 2020;2(2):83–92.
 15. Nissa LIK, Rahayu YP, Mambang DEP, Daulay AS. Prevalensi Bakteri *Salmonella Sp.* Pada Daging Ayam Potong Di Pasar Tradisional, Pasar Modern, Dan Merek Terkenal Di Kota Medan. *J Pharm Sci*. 2023;6(4):1842–53.
 16. Mutia S, Fauziah, Thomy Z. *Jurnal Bioleuser*. *J Bioleuser*. 2018;2(1):20–3.
 17. Yana NYD, Dharma B, Nugroho RA. Karakteristik Dan Identifikasi Bakteri Dari Tamba Daging Babi (*Sus Sp.*) Hasil Fermentasi Spontan. *Bioprospek* 2016.
 18. Fadilah W, . R, Mayasari U. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Heterotrofik Pada Kawasan Perairan Pantai Indah Kalangan, Tapanuli Tengah. *Metamorf J Biol Sci*. 2022;9(2):306.
 19. Gholami A, Majidpour A, Boustanshenas M, Adabi M, Dalam P, Rasoul-Akram RS, Et Al. Uji Berbasis PCR Untuk Membedakan *Pseudomonas Aeruginosa* Dengan Cepat Dan Tepat Dari Spesies *Pseudomonas* Lain Yang Pulih Dari Pasien Luka Bakar. 2016;81–5.