

FUNGSI *ESHERICHIA COLI* SEBAGAI INDIKATOR PENCEMARAN TINJA DALAM SISTEM AIR TANAH

Oleh:
Wuryadi

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk menguji fungsi *E.coli* sebagai indikator pencemaran tinja dalam sistem air tanah dengan mengkaji kelangsungan hidupnya dalam air sumur gali yang terisolasi (dalam gentong penyimpanan dan dalam sistem aliran yang berkelanjutan). Yang akan diuji adalah apakah *E.coli* dapat konsisten kehadirannya dalam air tanah, baik dalam kualitas maupun kuantitasnya. Dua penelitian pokok yang dilakukan untuk menguji fungsi *E.coli* sebagai indikator adalah uji kelangsungan hidupnya dalam gentong penyimpanan dengan variasi volume air sumur 30, 20 dan 10 liter (yang diambil dari 5 contoh sumur yang ditetapkan secara acak di Kotamadya Yogyakarta), dan dalam sistem aliran berkelanjutan yang dalam waktu 24 jam mengalirkan dalam bentuk tetesan yang berkelanjutan air sumur (dari satu contoh sumur) yang telah disterilkan sebanyak 2 400 ml.

Percobaan pada penyimpanan dalam gentong dilakukan melalui percobaan faktorial dengan tiga faktor yaitu sumur (5 tingkat), volume (3 tingkat) dan lama penyimpanan (9 tingkat). Rancangan percobaan dengan Rancangan Petak Terbagi (*Split Plot Design*) yang terbagi dalam dua kelompok faktor, faktor sumur dan volume diletakkan sebagai petak utama dan lama penyimpanan diletakkan sebagai anak petak. Sementara itu percobaan dengan menggunakan sistem aliran berkelanjutan dianalisis dengan analisis ko-varian dalam rancangan acak lengkap.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa pada penyimpanan dalam gentong, semua faktor yang diteliti, termasuk interaksinya menunjukkan pengaruh yang sangat nyata terhadap jumlah *E.coli*. Pengaruh tiap faktor dengan demikian hanya dapat dilihat sebagai pengaruh sederhana, dan tampak bahwa selama waktu penyimpanan 25 hari, terjadi fluktuasi jumlah *E.coli*. Pada percobaan dengan sistem aliran berkelanjutan, jaminan konsistensi kondisi lingkungan tidak mampu mencegah terjadinya fluktuasi pertambahan jumlah *E.coli* selama waktu 6 hari. Kesimpulan yang dapat diperoleh dari dua percobaan ini adalah: pertama fungsi *E.coli* sebagai indikator pencemaran tinja hanya sebatas indikator kualitatif, sementara itu jumlah *E.coli* tidak dapat digunakan sebagai indikator berat-ringannya pencemaran tinja dalam sistem air tanah; kedua *E.coli* ternyata mampu menggunakan bahan yang sangat terbatas jumlahnya yang berasal dari basil lisis sel-selnya sendiri untuk menunjang pertumbuhannya; fluktuasi jumlah *E.coli* sampai pada hari ke 25 (pada penyimpanan dalam gentong) dan 6 hari (pada sistem aliran berkelanjutan) menunjukkan bahwa viabilitas *E.coli* cukup tinggi di lingkungan aslinya (tinja).

Pendahuluan

Indikator pencemaran pada umumnya digunakan sebagai alat untuk menunjuk eksistensi pencemaran yang tidak mungkin diukur secara langsung karena alasan teknis. Indikator pencemaran tinja dapat menggunakan bagian-bagian tinja yang dapat dideteksi secara relatif lebih mudah dan secara kuantitatif dapat selalu mewakili kehadiran tinjanya sendiri. Umumnya dikenali indikator mikrobiologis, biokhemis, fisis, atau indikator khemis, dan dari berdasarkan pengalaman, orang cenderung menggunakan indikator mikrobiologis, walaupun masih mengandung permasalahan yang harus dipecahkan.

E.coli adalah salah satu bakteri yang dikandung oleh tinja manusia bersama dengan ribuan bakteri tinja lainnya membentuk sistem bakteriologi tinja yang bersangkutan. Selain *E.coli*, umumnya digunakan bakteri bening yang jenisnya banyak akan tetapi umumnya mempunyai sifat yang hampir sama yang digunakan sebagai indikator tinja dalam sistem perairan. Namun demikian sifat-sifat yang lebih spesifik (jumlahnya 90% dari jumlah bakteri kenormalan sementara itu berkemampuan untuk menyesuaikan diri dalam lingkungan yang temperaturnya sekitar 20° C), maka *E.coli* lebih akurat fungsinya sebagai indikator tinja.

Sumur gali adalah suatu sistem akifer yang terbuka, dangkal, dan airnya tergantung dari kondisi resapan air hujan dan air limpasan lainnya. Oleh karena itu sifatnya menjadi rawan terhadap pencemaran dari sistem lingkungan sekitarnya termasuk sistem resapan buangan rumah tangga (resapan *septic tank*). Air di akifer mengalir dari hulu ke hilir sebagaimana air permukaan, namun dengan kecepatan yang jauh lebih lambat. Proses penyebaran bahan pencemar oleh bakteri-bakteri pencemar, dapat terjadi melalui infiltrasi dan perkolasi karena itu pencemaran dari bagian hulu dapat menyebar ke bagian hilir akifer, dan ini yang digunakan sebagai latar belakang informasi tentang penyebaran bahan pencemar dalam sistem akifer atau sistem air tanah.

Syarat dan tolok ukur indikator pencemaran perlu dikaji secara cermat, terutama indikator yang mengalami perubahan selama dalam perjalanan dari sumber pencemar primer dan sampai ke dalam sistem air tanah atau sumur gali. Perubahan yang dapat terjadi dapat berbentuk pertambahan atau pengurangan atau kadar atau pengurangan jumlah atau kadar. Dalam kondisi seperti itu kehadiran indikator tidak akan sepenuhnya dapat menggambarkan tingkat pencemaran itu sendiri. Permasalahan ini menjadi sangat esensial pada saat

menentukan baku mutu kualitas air dengan menggunakan ukuran indikator pencemaran tinja.

Salah satu pokok dalam penelitian ini adalah apakah *E.coli* dapat digunakan sebagai indikator pencemaran tinja baik dari segi kualitatif maupun kuantitatif. Dengan perkataan lain yang ingin diuji dalam penelitian ini adalah apakah mengalami perubahan selama proses penyimpanan, kalau infiltrasi ke dalam sumur gali dapat dihindarkan pengaruhnya.

Salah satu masalah secara rinci adalah:

1. Apakah *E.coli* akan mengalami perubahan atau pertambahan dalam jumlah atau kadar yang disimpan dalam tempat yang meniadakan proses infiltrasi ke dalam sumur gali?

2. Apakah *E.coli* akan mengalami perubahan atau pertambahan dalam jumlah atau kadar akibat konstante faktor khemis dan fisisnya (yang tersaring oleh sumur gali) dengan konstante fisis dan khemisnya serta volumenya dengan sistem penyimpanan yang bersangkutan?

3. Apakah sumur gali yang dapat berubah jumlahnya dalam air sumur gali (tanpa terdapat faktor perkolasi) masih layak fungsinya sebagai indikator pence-

maran tinja di akifer.

4. Apakah mengalami perubahan jumlah *E.coli* terhadap perlakuan penyimpanan yang berbeda-beda dalam genteng dalam berbagai volume awal dan jenis sumur gali?

5. Apakah mengalami perubahan jumlah *E.coli* terhadap perlakuan penyimpanan yang berbeda-beda dalam sistem aliran berkelanjutan.

6. Apakah sumur gali dapat sebagai indikator pencemaran tinja baik dalam segi kualitatif maupun kuantitatif.

Penelitian ini merupakan pengkajian yang cermat tentang kedudukan indikator pencemaran tinja, dan hasilnya dapat dimanfaatkan untuk menetapkan baku mutu pencemaran dengan menggunakan indikator pencemaran tinja.

Salah satu tujuan pustaka telah banyak dilakukan terhadap indikator pencemaran tinja pada umumnya dalam sistem air tanah, baik itu sebagai indikator yang sah atau bakteri atau mikroba pendatang dari luar

Kelangsungan hidup bakteri dan mikroba pada umumnya dalam air tanah menyangkut tiga aspek yaitu *survival* (kemampuan bertahan hidup), *viable* (kemampuan untuk berkembang biak), dan *resistance* (daya tahan terhadap faktor lingkungan). Bakteri golongan *Enterobacteriaceae* telah banyak dikenal sebagai golongan mikroba yang memiliki kemampuan yang tinggi untuk beradaptasi dalam lingkungan air tanah.

Menurut Bitton dan Gerba (Bitton & Gerba, 1984: 5) faktor-faktor yang dianggap dapat berpengaruh terhadap kelangsungan hidup mikroba dalam sistem air tanah meliputi faktor-faktor iklim pada umumnya, jenis dan karakteristik tanah, dan karakteristik mikroba sendiri. Mikroba yang masih dapat hidup (*survive*), belum tentu mampu mengadakan reproduksi (*viable*), dan hal tersebut sangat tergantung pada karakteristik populasi mikro yang bersangkutan (bukan sifat individual sel mikroba).

Pertumbuhan dan kematian mikroba dalam populasinya dapat membentuk kurva yang terpola dan umumnya dikenal sebagai kurva pertumbuhan (*growth curve*) yang secara umum terdiri atas 6 fase pertumbuhan (Gaudy and Gaudy, 1981: 230-236; Jawetz, et al., 1980: 87-88): yaitu (1) fase pertumbuhan lambat (*lag phase*), (2) fase pertumbuhan cepat (*exponential phase*), (3) fase pertumbuhan melambat (*declining growth phase*), (4) fase tak berkembang (*stationary phase*), (5) fase kematian cepat (*accelerating autolysis phase*), dan (6) fase kematian melambat (*decelerating autolysis phase*).

Hasil penelitian Cooper (Hawker & Linton, 1971: 188) menunjukkan bahwa pertumbuhan dan kematian mikroba tidak berjalan linear akan tetapi dalam bentuk fluktuasi dan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungannya dan susunan genetik (*genetic constitution*) dari tiap sel mikroba tersebut. Penelitian Harrison pada populasi mikroba yang padat sel dalam medium tanpa nutrisi, sel mikroba yang dapat bertahan dapat menggunakan bahan yang berasal dari sel-sel mikroba yang mati setelah diteliti oleh Strange, Wade dan Ness, mengandung bahan amonia, basa nukleat, dan fosfat organik. Bahan-bahan ini yang digunakan untuk pertumbuhan sel-sel lainnya yang masih bertahan (*survive*) dan yang akan menghasilkan pola fluktuatif jumlah sel mikroba dalam populasinya (Salle, 1967: 227-228).

Gerba dan Bitton (Bitton & Gerba, 1984: 73) menemukan bahwa bakteri *E.coli* tidak jauh berbeda dengan mikroba lain yang dapat hidup dalam lingkungan air yang miskin nutrisi, namun pola pertumbuhannya sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungannya, seperti temperatur (antara 35°-40° C adalah temperatur yang optimal bagi kecepatan pembelahan sel *E.coli*, yaitu 17.5-22 menit), pH (yang bagi *E.coli* suasana basa, yaitu pH antara 5.8-7.8 dapat memperpanjang kelangsungan hidupnya sampai beberapa minggu), di samping adanya faktor-faktor ko-aksi dari mikroba lainnya, baik yang berfungsi antagonis maupun yang sinergis.

Tidak semua bahan pencemar yang mencemari sistem air tanah adalah bahan pencemar yang sederhana dan mudah dideteksi kehadirannya melalui pengukuran secara langsung. Adakalanya bahan pencemar merupakan bahan yang sangat kompleks, yang tersusun dari berbagai komponen yang tidak sederhana dan tidak dengan mudah dapat diukur. Dalam kondisi seperti itulah umumnya dicari indikator yang memudahkan pengukuran dan pendeteksian pencemaran yang terjadi. Indikator diharapkan dapat digunakan untuk menunjukkan (a) kehadiran pencemar, (b) identitas pencemar, atau (c) konsentrasi pencemar (Dermer, Curtis and Leach, 1980: 6). Secara umum indikator yang dikenal dapat bervariasi dari bentuk indikator fisis (warna, temperatur, radioaktivitas, daya hantar listrik, tegangan permukaan), indikator khemis (oksigen terlarut, pH, amonium, kesadahan, kation, anion, bahan organik), indikator biokhemi (ATP, DNA, RNA, klorofil, organofosfat, enzim spesifik, protein, dan lainnya), indikator biologis (mikroba umum, koliform, algae, bakteri patogen, virus, biomassa, avertebrata, hewan uji dan lainnya).

Hasil penelitian Geldreich (Berg, 1978: 52) menunjukkan bahwa tinja manusia umumnya terdiri atas campuran air, sisa makanan yang belum tercerna (serabut daging, butir pati, selulosa tumbuhan), produk saluran pencernaan (empedu, enzim, mukosa), hasil samping pemecahan makanan (indol, skatol, asam lemak dan berbagai macam gas), sel-sel epitel dari dinding saluran pencernaan dan populasi mikroba asli dalam saluran pencernaan. Mikroba dalam tinja dapat mencapai 8.7% berat basah tinja atau 25% berat kering tinja atau dapat dikatakan tiap hari rata-rata dikeluarkan sebanyak 3-8.6 gram mikroba dari tinja manusia, dan tiap gram mengandung 1.8×10^{12} sel bakteri *E.coli*.

Pada umumnya *E.coli* bersifat non-patogen, oleh karenanya maka kehadiran bakteri ini sendiri tidak menunjukkan bahaya patogenitas langsung. Namun kehadiran *E.coli* sebagai indikator kehadiran bakteri patogen atau virus atau bahan toksik lain, yang harus diwaspadai. Terutama kalau *E.coli* dalam jumlah yang cukup banyak.

Beberapa penelitian yang menunjukkan hubungan kehadiran bakteri *Salmonella spp.* (yang sangat patogen) dengan kehadiran *E.coli* dalam jumlah yang cukup banyak, ditunjukkan oleh penelitian-penelitian Grønnet et al., Hirsamki, dan Kristensen yang dapat dikaji dari Tabel 1 menurut Bonde (Droops and Janssen, 1977: 321):

Tabel 1. Persentase Keberadaan *Salmonella* spp. Kaitannya dengan Jumlah *E.coli*

Jumlah <i>E.coli</i>	% Keberadaan <i>Salmonella</i> spp.	% Ketidakterdapatannya <i>Salmonella</i> spp.	Total %
> 1000/100 ml	80	20	100
≤ 1000/100 ml	44	55	100

Catatan: data tersebut di atas diperoleh dari penelitian air estuarin
 $\chi^2 = 26.65 (p < 0.005)$

Penelitian lebih lanjut yang dilakukan Geldreich (Berg, 1977:58) menunjukkan bahwa apabila jumlah *E.coli* melebihi 100 000/100 ml, maka persentase kehadiran *Salmonella* spp. mencapai 100%. Jumlah bakteri yang ada dalam tinja sangat menentukan fungsinya sebagai indikator pencemaran tinja, dan hal ini sangat tergantung dari jenis hewan yang mengeluarkan tinja. Beberapa Sifat esensial *E.coli* menurut Orskov (Krieg and Holt, 1984):

1. Mempunyai tipe tipe metabolisme respiratorik (*aerob*) maupun fermentatif (*anae-rob*) dan suhu optimumnya adalah 37° C.
2. Permukaan koloninya halus (S) dan mengkilap dan batasnya jelas. Koloni yang permukaannya halus sangat mudah larut dalam larutan garam, sedang yang permukaan koloninya kasar (R), sulit larut dalam larutan garam
3. Asetat digunakan sebagai satu-satunya sumber karbon; glukosa dan karbohidrat lainnya umumnya difermentasi menjadi piruvat yang kemudian dapat diubah menjadi laktat, asetat dan formiat
4. Beberapa galur (serovar) bersifat anaerogenik (tidak menghasilkan gas)
5. Banyak galur terutama yang dapat diisolasi di luar intestinum, mempunyai kapsul atau mikrokapsul dari bahan polisakarida (temuan Orskov et al.), yang menurut temuan Lauderitz, et al., keadaan lipopolisakarida (LPS) yang membentuk membran luar yang menentukan apakah koloninya halus (adanya rantai samping LPS) atau kasar (rantai samping LPS tidak ada), karena hasil mutasi.
6. Galur *E.coli* yang dapat menyebabkan gejala diare dan digolongkan sebagai penyakit intestinalis (intestinal disease), dan dibedakan atas sifat antigeniknya adalah:
 - a. ETEC (eterotoxigenic *E.coli*), yang terdiri atas sejumlah galur yang menghasilkan enterotoksin yang kebanyakan ditentukan oleh sifat plasmid, sebagai penyebab diare pada binatang dan manusia (dewasa dan anak), dan banyak yang memiliki antigen F (fimbria)

antigen = antigen K). Sebagian besar karakteristik species ada pada galur ini.

- b. EPEC (*enteropatogenic E.coli*), yang terdiri atas sejumlah kecil galur yang berkaitan dengan diare pada bayi di kebanyakan klinik bersalin, klinik anak/bayu.
 - c. EIEC (*enteroinvasive E.coli*), yang terdiri dari beberapa galur yang dapat menyebabkan gejala seperti desentri.
7. Beberapa galur *E.coli* bersifat hemolitik dan berkaitan dengan infeksi saluran kencing (*urinary tract infection* = UTI).
 8. Galur-galur *E.coli* dapat disimpan dalam medium kultur daging sapi yang mengandung 10% glicerol pada temperatur -80° C dalam botol kecil dan dalam ruang gelap, dan dapat bertahan sampai beberapa tahun dalam keadaan hidup
 9. *E.coli* dapat diidentifikasi dengan mudah dengan menggunakan tes IMVC (Indol, Metil Merah, Voges-Proskauer, Citrat), atau dengan identifikasi sebagai berikut: I (+), M (+), V (-), C (-). Namun berdasar pengalaman tes IMVC ini tidak selalu akurat (26% dapat mengalami salah label atau salah identifikasi), oleh karena itu perlu dilengkapi dengan tes lain yaitu fermentasi laktose pada 44° C dan tidak mencairkan gelatin (L 44° C (+) dan G (-), yang dapat ditambahkan sebagai tes konfirmasi)
 10. *E.coli* mempunyai sifat yang toleran terhadap temperatur, daya viabilitasnya baik pada temperatur minimum 10° C, optimum pada 37° C dan maksimum pada 45° C. Pada percobaan dengan temperatur -196° C seperti yang dilaporkan oleh Govorunov & Puchkov (1988: 289), terjadi gangguan dan kerusakan pada membran sitoplasmik (sel yang "terluka"), namun ternyata juga didapatkan sel-sel yang masih "utuh".
 11. Shoval (Feachem et al., 1978: 376) menemukan bahwa *E.coli* dapat mengalami peristiwa yang disebut sebagai tumbuh kembali (*regrowth*) setelah perlakuan klorinasi (dengan kadar 5 mg/100 ml pada temperatur 20° C) yang kemudian dilakukan dekhlorinasi pada sistem air limbah, setelah jangka waktu 3- 4 hari.

Uraian Penelitian

Penghitungan jumlah *E.coli* dilakukan dengan metode filtrasi yang dilengkapi dengan medium spesifik untuk menumbuhkan bakteri *E.coli*, yaitu dengan medium NKS-Endo (SM 14053 N, Sartorius). Metode ini dilakukan dengan anggapan bahwa penghitungan jumlah bakteri dengan menghitung pertumbuhan jumlah koloni lebih mendekati gambaran jumlah bakteri yang masih memiliki viabilitas (kemampuan reproduksi). Metode ini juga sesuai

dengan jumlah bakteri yang terbatas sehingga dapat dihitung (kalau jumlahnya cukup banyak dapat dilakukan dengan pengenceran terbatas).

Uji konfirmasi jenis bakteri untuk memastikan bahwa koloni bakteri yang tumbuh adalah koloni *E.coli*, dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM, dengan menggunakan rangkaian tes sebagai berikut: KIA (*Kligler Iron Agar*), SSS (*Semi Solid Sucrose*), LIA (*Lysine Iron Agar*), MIO (*Motility Indol Ornithin*) dan ACE (*Acetate Agar*).

Penelitian yang dilaporkan dalam tulisan ini adalah: (a) Penelitian tentang pengaruh penyimpanan air sumur gali dalam gentong terhadap kelangsungan hidup *E.coli*; (b) Penelitian tentang pengaruh penyimpanan air sumur gali dengan sistem aliran berkelanjutan.

Metodologi untuk penelitian (a):

Bahan Percobaan : air dari lima sumur gali di Kotamadya Yogyakarta yang diambil secara acak.

Alat percobaan:

- 15 gentong dari grabah, masing-masing 3 gentong untuk satu contoh sumur
- botol contoh yang steril dengan volume 250 ml
- lembar plastik hitam untuk penutup gentong
- set alat filtrasi buatan Sartorius (47 mm, 250 ml, SM 16510)
- nutrient pad sets buatan Sartorius untuk *E.coli* (NKS-Endo, SM 14053 N, dan membran filter, SM 13906)

Cara Kerja :

- Tiga gentong yang disediakan untuk tiap contoh sumur, masing-masing diisi dengan contoh air sumur yang diambil secara acak komposit, sebanyak 30, 20 dan 10 liter, kemudian ditutup dengan plastik hitam (isolasi terhadap udara dan cahaya).
- Dari sisa contoh air, diambil tiga botol masing-masing 100 ml secara acak, untuk diperiksa jumlah bakteri *E.coli* nya dengan metode filtrasi. Jumlah bakteri yang terhitung adalah jumlah bakteri untuk H-00.
- Sebelum pengambilan contoh air dari masing-masing gentong, dilakukan homogenisasi dengan menggunakan pengaduk yang tetap berada dalam gentong.
- Hari-hari pemeriksaan jumlah *E.coli* ditetapkan pada hari penyimpanan H-02, H-04, H-06, H-08, H-10, H-15, H-20, dan H-25, tiap pemeriksaan dilakukan 3 kali ulangan.

- Penghitungan jumlah *E.coli* dilakukan setelah inkubasi 1 x 24 jam, dan dilakukan konfirmasi penghitungan jumlah bakteri setelah 2 x 24 jam

Rancangan Percobaan dan Analisis Statistika

Rancangan percobaan yang disiapkan untuk penelitian ini adalah Rancangan Petak Terbagi untuk percobaan faktorial dengan tiga faktor, yaitu sumur (S), volume (V) dan lama penyimpanan (H). Dua faktor yaitu (S) dan (V) diletakkan pada petak utama dan faktor (H) diletakkan pada anak petak. Faktor (S) bertaraf 5, (V) bertaraf 3, dan (H) bertaraf 9. Rancangan ini merujuk pada Gomez & Gomez, 1984: 262-266.

Analisis faktorial (5x3x9) dilakukan dengan menggunakan program PC Anova (Madigan, 1983), yaitu analisis faktorial dengan rancangan petak terbagi.

Metodologi untuk penelitian (b):

Bahan Percobaan : air salah satu sumur gali yang ada di Kotamadya Yogyakarta, dan diambil dengan cara acak komposit.

Alat Percobaan :

- Lima set alat percobaan yang dirakit sendiri, yang pada prinsipnya terdiri atas tiga tabung, yaitu tabung atas yang berisi air sumur yang tersaring, tabung tengah adalah tabung penyimpan air sumur 100 ml dengan tabung paling bawah adalah tabung penampung. Antara tiap tabung dihubungkan dengan pipa plastik yang diklem untuk mengatur aliran dari tabung atas ke tabung tengah, dan dari tabung tengah ke tabung bawah. Tabung tengah (tabung penyimpan) dan tabung bawah (penampung), diambil dari bagian alat filtrasi (*polycarbonate filter holder*) buatan Sartorius, sedang tabung penyimpan dilengkapi dengan nutrient pad sets.
- 120 nutrient pad sets untuk *E.coli* (NKS-Endo dengan filter membrannya).
- Alat filtrasi (*stainless steel*) buatan Sartorius, SM 16278 dan filter membrannya, SM 11106-47. Alat filtrasi ini dihubungkan dengan pompa vakum yang daya hisapnya relatif kecil (maksimum 20 bar). Alat ini digunakan untuk menyiapkan air sumur gali yang tersaring dan steril.

Cara Kerja:

- Penyiapan alat saring seperti pada alat filtrasi dan penyaringan contoh air sumur gali untuk kemudian dimasukkan dalam jeriken plastik yang steril dan disimpan dalam ruang dengan suhu ruang normal (27-30° C). Air tersaring diperiksa sifat fisika, kimianya di Laboratorium Balai Teknik Kesehatan Lingkungan, dan sifat mikrobiologisnya (kandungan *E.coli*, *Streptococcus*

faecalis dan *Salmonella typhosa*) diperiksa di Laboratorium Mikrobiologi FPMIPA IKIP YOGYAKARTA. Air saringan yang terbukti steril ini yang kemudian digunakan untuk penelitian.

- Langsung disiapkan alat penelitian sebanyak 5 set
- Diambil 10 botol air sumur masing-masing botol 100 ml, 5 botol diperiksa jumlah *E.coli* nya dan 5 botol lainnya dimasukkan dalam tabung penyimpanan yang mendapat aliran (tetesan) yang berkelanjutan sebanyak 2 400 ml/ 24 jam atau 100 ml/jam selama 24 jam, kemudian diperiksa jumlah *E.coli* nya.
- Cara kerja di atas di ulang bagi lama penyimpanan H-02, H-03, H-04, H-05 dan H-06.

Rancangan Percobaan dan Analisis Statistika:

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan analisis Ko-varian, sesuai dengan rujukan Gomez & Gomez, 1984: 431-437.

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Eksplorasi yang dilakukan terhadap kualitas fisis dan khemis air sumur gali untuk melihat pola pengaruh atau hubungannya dengan jumlah *E.coli* pada dua tahun berturut-turut (1984 dan 1985) sebagai rangkaian awal penelitian disertasi ini, menunjukkan adalah pengaruh yang tidak terpola. Keadaan ini merupakan awal persoalan yang menjadi perhatian penelitian disertasi ini. *E.coli* berubah jumlahnya dalam sistem air tanah (air sumur gali) tidak hanya karena penambahan infiltrasi dan perkolasi bersama dengan bahan-bahan pencemar lainnya, akan tetapi mengalami proses perbanyakan dengan reproduksi. Kenyataan inilah yang memerlukan pengkajian lebih lanjut dan untuk inilah dilakukan dua penelitian seperti disebutkan dalam tulisan ini.

Penelitian Pengaruh Penyimpanan Air Sumur Gali dalam Gentong terhadap kelangsungan hidup *E.coli*, hasilnya dapat dikaji pada Tabel 2., yang menunjukkan bahwa sampai pada H-25 masih terdapat kecenderungan peningkatan jumlah *E.coli* pada hampir semua contoh sumur dengan ketiga volume airnya. Penyimpanan dalam gentong berarti meniadakan infiltrasi dan perkolasi, berarti perubahan jumlah yang fluktuatif semata-mata disebabkan karena pembelahan sel (reproduksi) dan kematian sel-sel bakteri tersebut selama penyimpanan tersebut.

Analisis faktorial yang dirancang dengan rancangan petak terbagi, menunjukkan bahwa semua faktor dan interaksi antar faktor sangat berpengaruh, seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 3.

Tabel 2. Perubahan Jumlah *E.coli* dalam Percobaan Penyimpanan Air Sumur Gali dalam Gentong (jumlah koloni/ 100 ml air)

No	Sumur	Vol	H-00	H-02	H-04	H-06	H-08	H-10	H-15	H-20	H-25
1	1	30	30	200	130	3	100	100	5	1	5
2	1	30	30	160	90	3	95	105	2	1	30
3	1	30	30	110	130	2	85	100	3	2	45
4	2	30	360	490	460	58	170	140	355	25	40
5	2	30	440	490	460	63	155	140	455	35	125
6	2	30	370	400	500	60	185	140	490	25	150
7	3	30	80	340	800	1	105	70	10	30	9
8	3	30	110	360	55	4	120	70	10	30	40
9	3	30	110	360	610	3	110	70	10	30	25
10	4	30	120	200	40	110	15	35	3	2	115
11	4	30	110	170	40	107	15	35	5	1	185
12	4	30	100	150	50	113	5	35	1	1	60
13	5	30	120	3	10	4	10	15	50	3	70
14	5	30	120	5	10	3	15	15	60	4	40
15	5	30	120	2	10	2	15	15	35	3	120
16	1	20	30	24	80	9	195	45	15	3	65
17	1	20	30	290	60	10	195	45	15	2	30
18	1	20	30	380	60	12	155	45	15	4	70
19	2	20	360	1060	600	230	285	425	70	35	110
20	2	20	440	1160	630	225	295	420	110	60	100
21	2	20	370	1020	620	237	290	425	80	60	180
22	3	20	80	370	640	20	260	1030	760	1005	1475
23	3	20	110	370	660	22	235	1050	695	1125	590
24	3	20	110	330	650	18	255	950	700	1125	600
25	4	20	120	310	620	5	50	135	15	2	45
26	4	20	110	300	620	2	55	130	15	4	90
27	4	20	100	300	680	2	55	135	16	3	20
28	5	20	120	300	30	20	70	45	50	3	75
29	5	20	120	260	30	22	90	45	55	2	80
30	5	20	120	240	30	17	80	45	50	5	165
31	1	10	30	150	480	13	25	150	3	1	30
32	1	10	30	150	400	8	30	155	4	1	15
33	1	10	30	190	460	10	30	155	2	3	130
34	2	10	360	290	190	30	140	180	285	4	100
35	2	10	440	300	180	31	150	185	335	2	40
36	3	10	370	300	170	29	160	185	375	3	120
37	3	10	80	320	550	10	155	25	65	12	95
38	3	10	110	350	530	7	180	25	65	10	170
39	3	10	110	360	580	13	170	25	65	8	95
40	4	10	120	140	380	50	120	5	35	4	80
41	4	10	110	200	350	53	130	5	40	1	115
42	4	10	100	210	300	48	120	5	30	2	230
43	5	10	120	5	30	3	80	3	3	1	130
44	5	10	120	2	30	4	90	4	2	2	65
45	5	10	120	1	30	2	90	1	4	1	165

Tabel 3. Daftar Sidik Ragam Pengaruh Penyimpanan Air Sumur Gali Terhadap Perubahan Jumlah *E. coli*

Sumber Variasi	db	JK	KT	F	P
Petak Utama					
S	4	3894733.50	973686.3800	293.738	0.00
V	2	1571512.50	785756.2500	237.045	0.00
S x V	8	2209420.50	276177.5600	83.317	0.00
Sisaan 1	30	99444.00	3314.8000		
Anak Petak					
H	8	2912074.50	364009.3100	93.368	0.00
S x H	32	2913288.00	91040.2500	23.502	0.00
V x H	16	752638.50	47039.9060	12.143	0.00
S x V x H	64	4765756.50	74464.9450	19.223	0.00
Sisaan 2	240	929700.50	3873.7522		
Total	404	20048588.00			

Dari analisis tersebut di atas terlihat bahwa semua faktor berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan jumlah *E. coli* termasuk interaksi antar faktor. Gejala ini menyulitkan interpretasi yang lebih akurat, oleh karena itu banya dapat didekati dengan melihat pengaruh sederhananya (Steel & Torrie, 1980: 386). Dari gambaran pengaruh macam sumurnya, terlihat bahwa S2 dan S3, berpotensi menjadi penyebab terjadinya gambaran fluktuasi jumlah *E. coli* dan sejak awal sudah mengandung bakteri relatif lebih banyak. Volume awal air sumur gali yang disimpan, tidak terlampau jelas pengaruhnya, namun V2 (20 liter) yang cenderung berpotensi untuk mengembangkan jumlah bakteri lebih banyak. Lama penyimpanan sampai pada hari ke 8 (H-08) masih menunjukkan peningkatan jumlah (walaupun fluktuatif), dan sampai pada hari ke 10 mengalami penurunan, untuk kemudian meningkat lagi sampai hari ke 20 dan menurun pada hari ke 25. Namun ada kecenderungan secara umum bahwa jumlah bakteri *E. coli* masih akan mampu menunjukkan viabilitasnya untuk jangka waktu yang lebih lama, hanya makin lama akan makin menurun.

Jumlah inisial yang relatif tinggi ternyata cenderung menghasilkan pertumbuhan fluktuatif yang makin tajam. Tampaknya terdapat hubungan yang erat sekali antara jumlah bakteri yang ada dengan jumlah bakteri yang mati dan yang kemudian tumbuh kembali. Jumlah bakteri yang cukup tinggi dalam lingkungan yang terbatas bahan nutrisinya (dalam kondisi terisolasi) akan cenderung meningkatkan ketajaman kompetisi dan dengan demikian menyebabkan jumlah kematian yang tinggi. Namun lisis sel yang mati akan menjadi sumber nutrisi bagi bakteri yang masih mampu bertahan, dan dengan demikian akan memberikan peluang untuk tumbuh lebih banyak.

Pengaruh bahan hasil lisis sel bakteri yang telah mati terhadap pertumbuhan sel-sel bakteri yang masih bertahan, hanya akan cukup nyata terlihat dalam lingkungan yang sangat terbatas sumber nutrisinya (Gaudy & Gaudy, 1981: 203). Hal ini yang menjadi kunci terjadinya gejala fluktuasi jumlah *E. coli* dalam percobaan ini.

Penelitian Pengaruh Penyimpanan Air Sumur Gali dalam Sistem Aliran Berkelanjutan, dimaksud untuk melihat kelangsungan hidup *E. coli* dalam medium air sumur yang diberi jaminan konsistensi kondisinya (faktor khemis dan fisik), sementara itu komposisi mikroba dalam air contoh dijamin mendekati kondisi aslinya seperti kondisi awal.

Tabel 4. Pemeriksaan Jumlah *E. coli* dalam Percobaan Penyimpanan Air Sumur Gali dengan Sistem Aliran Berkelanjutan (jumlah koloni/100 ml air)

	Ulangan	H-01	H-02	H-03	H-04	H-05	H-06
X	1	60	250	90	70	1110	670
	2	80	265	40	240	1330	350
	3	10	70	90	140	280	480
	4	50	175	25	80	630	830
	5	30	85	50	290	250	930
Y	1	370	90	370	360	70	50
	2	390	110	540	30	280	60
	3	265	250	650	130	530	10
	4	465	165	320	70	90	3
	5	335	75	500	430	260	5

Ulangan :
 pemeriksaan jumlah koloni *E. coli* dalam air sumur gali sebelum penyimpanan
 pemeriksaan jumlah koloni *E. coli* dalam air sumur gali setelah penyimpanan

Tabel 5. Daftar Sidik Ragam dan Sidik Peragam Pengaruh Penyimpanan Air Sumur gali dengan Sistem Aliran Berkelanjutan terhadap Perubahan Jumlah *E.coli*

Sidik Ragam					
Sumber	Db	JK	KT	F	p
H	5	644944.3800	128988.8750	8.108	0.000
Sisaan 1	24	381797.1900	15908.2158		
Total	29	1026741.5600			

Sidik Peragam					
Sumber	Db	JK	KT	F	P
H	5	446397.4400	89279.4840	5.722	0.0017
Sisaan 2	23	356654.2500	15602.3584		
Total	28	806251.6900			

Dengan demikian dapat diharapkan bahwa mikroba yang ada dalam air contoh selalu dalam kondisi kecukupan nutrisi sebagaimana aslinya dalam air sumur. Secara umum hasil yang diperoleh dari penelitian ini dapat dikaji pada Tabel 4. Data tersebut diolah dengan analisis kovarian dengan RAL dapat dilihat pada Tabel 5.

Pemeriksaan jumlah *E.coli* pada penelitian ini dilakukan selang 24 jam, walaupun dengan jumlah awal yang berbeda, namun dengan analisis kovarian masih dapat dilihat pengaruhnya terhadap perubahan jumlah. Perubahan jumlah yang fluktuatif tetap terjadi dalam medium yang relatif tetap (ada jaminan aliran medium yang berkelanjutan dan konsisten). Namun yang tidak dapat dijamin adalah kondisi lingkungan yang bebas dari pengaruh mikroba lain (yang ada bersama dalam contoh air sumur yang diperiksa), hanya air pengganti yang dapat dibebaskan dari pengaruh mikroba tambahan. Perubahan jumlah *E.coli* yang fluktuatif diharapkan sebagai sifat biologi bakteri tersebut, yang merupakan

perpaduan antara proses reproduksi dan kematian bakteri. Setiap kematian bakteri akan menyumbang sejumlah bahan nutrisi yang dibutuhkan bagi perkembangan bakteri lain yang masih *viable* (berkemampuan untuk reproduksi). Sumbangan ini akan menjadi nyata kalau jumlah nutrisi yang terdapat dalam medium terbatas atau dalam kondisi yang tidak mencukupi untuk mendukung perkembangan semua bakteri yang ada dalam medium. Atau tidak semua nutrisi dalam keadaan terbatas, hanya satu atau dua komponen yang berada dalam kedudukan sebagai faktor pembatas, sehingga kehadiran komponen tersebut sangat menentukan fluktuasi jumlah bakteri *E.coli* dalam medium tersebut. Secara teoritik bahan seperti ini memiliki *anapleuritic effect*, yang dapat melindungi bahan penting dalam siklus metabolisme yang dapat menunjang aktivitas sintesa biotik (Moat, 1979: 21; 136).

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Penyimpanan air sumur gali dalam gentong (tidak terjadi infiltrasi dan perkolasi bahan dan mikroba), berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan jumlah *E.coli* yang fluktuatif. Perubahan jumlah ini tetap terjadi sampai pada hari penyimpanan ke-25 (H-25).
2. Penyimpanan air sumur gali dengan sistem aliran berkelanjutan (untuk menjamin konsistensi kondisi air sumur), berpengaruh sangat nyata terhadap perubahan jumlah yang fluktuatif *E.coli* yang fluktuatif. Perubahan jumlah ini masih terlihat sampai pada hari ke 6 (H-06) melalui pengamatan tiap 24 jam sekali.
3. Perubahan jumlah *E.coli* yang fluktuatif ini menandakan bahwa jumlah bakteri ini tidak dapat digunakan sebagai indikator berat atau ringannya pencemaran tinja dalam air sumur dan tidak dapat digunakan untuk menunjuk tingkat bahaya karena adanya pencemaran bakteri patogen lainnya.

4. Kehadiran *E.coli* dalam air sumur gali hanya dapat digunakan untuk menandai adanya pencemaran tinja dalam sistem air tanah.

Saran

1. Penentuan ukuran baku mutu air bagi peruntakan air minum dan air baku air minum, perlu dukungan penelitian dan pertimbangan yang seksama menurut kondisi lingkungan.
2. Penghitungan jumlah *E.coli* pada sistem perairan, perlu dilakukan untuk jangka waktu tertentu (sebulan atau lebih, menurut kondisi setempat). Penetapan jangka waktu yang dimaksud, *perlu* dilakukan melalui penelitian sesuai dengan kondisi setempat.
3. Penelitian lanjut tentang pengaruh faktor-faktor lingkungan (fisika, kimia dan biologi) terhadap perubahan jumlah *E.coli* dalam air tanah perlu dikembangkan dan dipertajam metodologinya serta faktor perlakuannya.

Daftar Pustaka

- Berg, Gerald. *The Indicator System*, pp. 1-14, (1978). Dalam Berg, Gerald (Ed.) *Indicators of Viruses in Water and Food*. Ann Arbor, Michigan : Ann Arbor Science Publishers Inc.
- Bitton, Gabriel and Charles P. Gerba (1984). *Groundwater Pollution Microbiology: The Emerging Issues*. Pp. 1-8. Dalam Bitton, Gabriel and Charles P. Gerba. (Ed.) *Groundwater Pollution Microbiology*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Bonde, C.I. *Bacterial Indication of Water Pollution*, pp. 273-364, (1977). Dalam Droops, M.R., and H.W. Jannasch. (Ed.) *Advances in Aquatic Microbiology*. Volume 1. London: Academic Press.

- Cooper, K.E. *Growth of Micro-organisms in Artificial Culture*, pp.273-364, (1971). Dalam Hawker, Lilian E. and Alan H. Linton (Ed). *Micro-organisms: Function, Form and Environment*. Edward Arnold. Ltd., London.
- Dermer, Otis C.; Vivian S. Curtis, and Franklin R. Leach. (1980). *Biochemical Indicators of Subsurface Pollution*. Ann Arbor, Michigan: Ann Arbor Science Publishers Inc.
- Gaudy, Anthony F. and Elizabeth T. Gaudy (1981). *Microbiology for Environmental Scientists and Engineers*. International Student Edition. McGraw-Hill International Book Company, Auckland.
- Geldreich, Edwin W. (1978). *Bacterial Population and Indicator Concepts in Feces, Sewage, Stormwater, and Solid Wastes*, pp. 51-9. Dalam Berg, Gerald (Ed.). *Indicators of Viruses in Water and Food*. Ann Arbor Science Publishers Inc., Ann Arbor, Michigan.
- Gerba, Charles P and Gabriel Bitton. (1984). *Microbial Pollutants: Their Survival and Transport Pattern to Groundwater*, pp. 65-88. Dalam Bitton, Gabriel and Charles P. Gerba (Ed.). *Groundwater Pollution Microbiology*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Gomez, Kwanchai A. and Arturo A. Gomez (1984). *Statistical Procedures for Agricultural Research*. Second Edition. A Wiley-Interscience Publication. John Wiley & Sons, New York.
- Gvoronov, I.G. and E.O. Puchkov, (1988). *Express Assay of Viability of *Escherichia coli* Cells Subjected to Action of Low Temperatures*. Dalam Mikrobiologiya (Translated), Vol 57, No. 2, pp.347-351, March-April.
- Jawetz, E.; J.L. Melnick and E.A. Adelberg (1980). *Review of Medical Microbiology*. Maruzen Asia PTE, Ltd., Singapore.
- Moat, Albert G. (1979). *Microbial Physiology*. A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York.

Fungsi Escherichia coli sebagai Indikator Pencemaran Tinja dalam Air Tanah

- Osrskov, Fritz. *Genus I : Eschechia col*, pp. 420-423, (1984). Dalam Krieg, Noel R. and John G. Holt, (Ed.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Volume I. Williams and Wilkins, Baltimore.
- Salle, A. J. (1967). *Fundamental Principles of Bacteriology*. Sixth Edition. McGraw-Hill Kogakusha Ltd., Tokyo.
- Steel, Robert G.D. and James H. Torrie (1980). *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. Second Edition. International Student Edition, McGraw-Hill International Book Company, Auckland.