
LAMPIRAN 3.

Studi Kinetika Pertumbuhan Bakteri Indikator Pencemar Sebagai Dasar Pengelolaan Kualitas Air Minum

Oleh:

Ignasius Sutapa, Tri Yuli Setyaningsih & Djoko Santoso

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri indikator pencemar air bersih yaitu Coliform, Fecal Coliform dan Fecal Streptococcus dari instalasi pengolahan air bersih skala pilot dan mempelajari kinetika pertumbuhannya. Penelitian dilakukan di Pusat Penelitian Limnologi-LIPI Cibinong, yang memiliki instalasi pengolahan air bersih skala pilot dengan kapasitas produksi 30 liter/menit, dengan air baku yang berasal dari Situ Cibuntu. Setelah isolat bakteri dimaksud yang diambil dari sampel air baku didapatkan melalui isolasi, purnuan dan inkubasi, selanjutnya dilakukan studi kinetika pertumbuhan tiap isolat. Hal ini dilakukan pada media spesifik yang sesuai. Isolat ditumbuhkan pada media tersebut dan diinkubasikan pada suhu optimal dan diaduk pada kecepatan 90 rpm. Setiap interval waktu tertentu dilakukan pembacaan *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Dari OD terukur dicari waktu generasi (g), konstanta *instantaneous growth rate* (μ) dan konstanta kecepatan pertumbuhan (k). Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam kultur murni, ketiga jenis bakteri memiliki kecenderungan kurva pertumbuhan searah. Fase stasioner untuk ketiganya praktis dicapai dalam kisaran waktu 5 jam. Fase kematian untuk Fecal coliform dan Fecal Streptococcus berada dalam kisaran 10 jam sementara untuk Coliform lebih lama yaitu sekitar 15 jam. Dari perhitungan parameter kinetika memperlihatkan bahwa Fecal Coliform memiliki waktu generasi (g) tercepat diikuti Coliform dan Fecal Streptococcus masing-masing 1.06, 1.4 dan 1.6 jam. Sementara kecepatan pertumbuhan spesifiknya (μ) berkebalikan arah yaitu 0.65, 0.48 dan 0.43 jam^{-1} . Sedangkan kecepatan pertumbuhan rata-ratanya (k) masing-masing adalah 0.9, 0.69 dan 0.6 jam^{-1} . Menarik untuk dikaji selanjutnya sejauh mana pengaruh konsentrasi klorin terhadap kinetika pertumbuhan bakteri-bakteri tersebut.

Kata kunci: isolasi bakteri, kinetika pertumbuhan, koliform, streptococcus

1. PENDAHULUAN

Bersarkan Peraturan Menteri Kesehatan No 46/MENKES/PER/IX/1990, air bersih yang digunakan untuk keperluan sehari-hari, kualitasnya harus memenuhi syarat kesehatan dan dapat diminum apabila telah dimasak. Salah satu persyaratan yang harus dipenuhi adalah kualitas mikrobiologis yang mencakup ada tidaknya mikroorganisme patogen pada air. Air yang diproduksi oleh pihak terkait seperti PDAM, biasanya sudah memenuhi syarat dimaksud sebelum didistribusikan kepada pelanggan. Namun demikian akhir-akhir ini semakin banyak keluhan di tingkat konsumen mengenai tidak layaknnya air bersih yang mereka konsumsi. Uji laboratorium juga menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan konsentrasi mikroorganisme patogen yang melewati ambang batas

aman di dalam air bersih di tingkat pelanggan. Disamping faktor kebocoran distribusi air bersih di dalam perjalanannya, tingkat toleransi terhadap desinfektan yang digunakan maupun kecepatan pertumbuhan mikroorganisme patogen belum banyak dikaji.

Dalam pemeriksaan bakteriologis air menurut Pelczar dan Chan (1988) tidak cukup bila hanya mendasarkan pada uji-uji yang digunakan untuk uji mikroorganisme patogenik saja. Hal ini disebabkan karena patogen masuk ke dalam air secara sporadis, tetapi karena tidak dapat bertahan hidup lama maka mungkin saja tidak terdapat dalam contoh air yang dikirim ke laboratorium. Disamping itu, bila jumlahnya sangat sedikit, maka kemungkinan besar patogen-patogen tersebut tidak terdeteksi oleh prosedur laboratorium yang digunakan. Hasil pemeriksaan laboratorium biasanya baru dapat diketahui setelah 24 jam atau lebih. Sehingga seandainya ditemukan adanya patogen, sementara itu tentunya banyak orang yang telah mengkonsumsi air tersebut dan telah tereksposi terhadap infeksi sebelum dapat dilakukan usaha untuk mengatasi situasi tersebut. Beberapa kendala lainnya diantaranya adalah: bermacam-macam uji diperlukan untuk mengetahui ada atau tidaknya semua jenis mikroorganisme patogen. Demikian juga uji-uji yang diperlukan untuk mengidentifikasi patogen pada umumnya terlalu kompleks dan memerlukan waktu relatif lama dan biaya yang tidak sedikit. Disamping itu perlu dipertimbangkan kemungkinan bahaya yang dapat timbul dalam mengisolasi dan menguji mikroorganisme patogen (Pelczar & Chan 1988; Fardios 1992).

Oleh karena itu perlu adanya mikroorganisme indikator yang kehadirannya dalam air merupakan bukti bahwa air tersebut telah terpolusi oleh bahan-bahan feses dari manusia dan hewan berdarah panas dan kemungkinan pada air tersebut mengandung mikroorganisme patogen. Sebaliknya jika dalam sampel air tidak terdapat mikroorganisme indikator tersebut, berarti air tersebut tidak tercemar oleh feses dan tidak mengandung organisme patogen (Alearts dan Santika 1984). Mikroorganisme yang dapat berperan sebagai indikator ideal mempunyai ciri-ciri:

- terdapat pada feses manusia dan hewan berdarah panas dalam jumlah yang banyak.

-
- mudah dideteksi dengan metode yang sederhana.
 - tidak terdapat dalam air yang tidak tercemar.
 - tetap ada dalam air dan rentan terhadap sistem pengolahan air seperti halnya mikroorganisme patogen (Reynolds 2003).

Mikroorganisme yang dapat dijadikan indikator ideal adalah kelompok bakteri koliform, *Streptococci* dan *Enterococci*. Ketiga kelompok bakteri ini merupakan bakteri enterik yang hidup dalam saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas (Hurst *et al* 2002).

1.1. Koliform dan Termotoleran Koliform (Fekal Koliform).

Sejak tahun 1920an koliform dan termotolerant koliform telah digunakan sebagai indikator kualitas air (Reynolds 2003). Menurut *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, koliform merupakan kelompok bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, aerobik dan fakultatif aerobik, dan dapat menfermentasi laktosa dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu 24 sampai 48 jam pada suhu 35 °C (Miller & Litsky 1976). Bakteri koliform mencakup famili *Enterobacteriaceae*, termasuk *Escherichia coli*, genus *Enterobacter*, *Klebsiella* dan *Citrobacter*. Walaupun kelompok bakteri ini secara alami hidup dalam saluran pencernaan hewan berdarah panas tapi ada anggota dari kelompok bakteri ini yang hidup pada lingkungan normal dan lingkungan nonenterik seperti limbah industri kayu dan permukaan tanki air (Hurst *et al* 2002). Mereka biasanya tidak bersifat patogen walaupun kehadiran mereka pada air minum menandakan kegagalan pengolahan atau terdapatnya kontaminan pada air tersebut. Tiap sampel air yang dinyatakan positif mengandung koliform harus dianalisis lebih lanjut untuk menentukan jumlah fekal koliform (Reynolds 2003). Beberapa karakteristik koliform yang membuat mereka sangat penting sebagai indikator antara lain :

- kemampuannya tumbuh baik pada berbagai substrat dan mengubah sejumlah karbohidrat serta sejumlah komponen kimia lain sebagai sumber makanan mereka.
- kemampuan mereka dalam mensintesis banyak vitamin penting.

-
- kemampuan masing-masing anggota tumbuh pada kisaran temperatur yang luas
 - kemampuan mereka menghasilkan asam dan gas dari gula
 - kemampuan mereka menyebabkan rasa makanan tidak sedap (Frazier & Westhoff 1988).

Fekal koliform merupakan subgrup dari koliform. Perbedaannya terletak pada termotolerannya yaitu kemampuan tumbuh pada suhu 44,5 °C. Bakteri pada subgrup ini mempunyai hubungan yang sangat erat dengan kontaminasi fekal dari hewan berdarah panas. *Escherichia coli* merupakan anggota dari fekal koliform yang paling banyak dibicarakan. Bakteri ini merupakan indikator yang sangat spesifik untuk mengetahui adanya kontaminasi fekal daripada anggota fekal koliform lainnya karena sering ditemukan pada feses bersama-sama patogen enterik seperti virus, protozoa dan bakteri patogen lainnya (Hurst *et al* 2002). Penggunaan mikroorganisme indikator dimulai dari penggunaan percobaan *E. coli* di air sebagai ganti percobaan *Salmonella thypii*. Konsep ini berdasarkan saran Shardingon tahun 1892 yang mengatakan bahwa anggota dari spesies *E. coli* digunakan sebagai indeks atau indikator polusi fekal karena mereka memiliki kemampuan pulih lebih besar daripada *Salmonella thypii* (Frazier & Westhoff 1988). Namun ada strain *E. coli* yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Strain *E. coli* 0157 :H7 dapat hidup pada hewan ternak dan hewan domestik lain tanpa gejala apapun dan kemudian dapat dipindahkan pada manusia tanpa peringatan melalui daging yang dimakan (Schwass 2000).

1.2. Fekal Streptococci dan Enterococci.

Fekal *Streptococci* dan *Enterococci* merupakan bakteri gram positif dan aerobik. Berdasarkan serologinya fekal *Streptococci* dan *Enterococci* termasuk dalam genus *Streptococcus* golongan D. Digunakan sebagai indikator kualitas air secara mikrobiologis karena beberapa alasan :

- keduanya menunjukkan hubungan yang dekat dengan resiko kesehatan khususnya gejala gastrointestinal.
- keduanya tidak seperti koliform yang berada dimana-mana.

- keduanya selalu ada pada feses manusia dan hewan berdarah panas.
- waktu kematian keduanya di air lebih cepat daripada koliform dan polanya sama seperti bakteri patogen (Hurst *et al* 2002).

Fekal *Streptococci* pada umumnya tidak berbahaya walaupun beberapa strainnya dapat diisolasi dari penderita endokarditis. Jumlahnya tidak sama pada manusia dan hewan berdarah panas. Perbandingan antara densitas fekal koliform dan fekal *Streptococcus* pada manusia antara 4:1 sedangkan pada hewan berdarah panas kurang dari 0,7 (Frazier & Westhoff 1988). *Enterococci* merupakan subgrup dari fekal *Streptococci* yang mempunyai kemampuan hidup pada air garam (Reynolds 2003). Menurut kriteria Sherman, anggota dari subgrup ini dapat tumbuh pada temperatur 10 °C dan 45 °C, resisten pada temperatur 60 °C selama 30 menit, tumbuh pada pH 9,6 dan NaCl 6,5 %, serta mempunyai kemampuan untuk mereduksi *methyline blue* 0,1 % (Hurst *et al* 2002). *Streptococci* yang termasuk *Enterococci* antara lain *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. durans* dan *S. avium*. Sedangkan *Streptococci* yang tidak termasuk *Enterococci* yaitu *S. bovis* dan *S. equinus*.

Walaupun ketiga jenis bakteri patogen indikator pencemar air tersebut telah lama dikenal, namun sampai saat ini masih sedikit sekali informasi yang berhubungan dengan kinetika pertumbuhannya, terutama jika dikaitkan dengan sifat dan karakteristiknya baik fisiologis maupun selnya untuk memahami perkembangannya di sepanjang saluran distribusi air minum. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri indikator pencemar air bersih yaitu : koliform, fekal koliform dan fekal streptococcus dari instalasi pengolahan air bersih skala pilot dan memperlaori kinetika pertumbuhannya.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Isolasi bakteri indikator

2.1.1. Total Coliform dan termotolerant Coliform.

Diambil sampel air dari bak intake air baku. Sampel disirupkan di dalam suhu 4°C, untuk dibawa ke laboratorium. Selanjutnya, dilakukan pengenceran bertingkat, dari 10⁻¹ sampai dengan 10⁻⁶ terhadap sampel yang didapat. Dari hasil

pengenceran bertingkat, diambil masing-masing 1 ml sampel, untuk dibiakkan. Media yang digunakan untuk total Coliform yaitu mEndo dan untuk Fecal Coliform mFC. Cawan petri diinkubasi selama 24 jam pada temperatur $35 \pm 0,5$ °C untuk total koliform dan selama 48 jam dengan temperatur $44,5 \pm 0,5$ °C untuk termotolerant koliform. Koloni berwarna merah dengan penampakan hijau metalik menandakan uji positif untuk total Coliform. Dan koloni berwarna biru menandakan uji positif untuk termotolerant Coliform. Pemurnian dilakukan dengan cara mengambil 1 ose koloni bakteri dan menumbuhkannya secara aseptis pada cawan petri dengan media yang sesuai. Selanjutnya, dilakukan inkubasi selama dua hari pada suhu yang sesuai, untuk melihat keberadaan kontaminan pada media pertumbuhan. Bila terdapat kontaminan, maka dilakukan pemurnian ulang.

2.1.1.1. Total Fecal *Streptococci*

Dengan cara yang sama diambil sampel air dari bak intake air baku. Sampel disimpan di dalam suhu 4 °C, untuk dibawa ke laboratorium. Selanjutnya, dilakukan pengenceran bertingkat, dari 10^{-1} sampai dengan 10^{-6} terhadap sampel yang didapat. Dari hasil pengenceran bertingkat, diambil masing-masing 1 ml sampel, untuk dibiakkan pada cawan petri yang berisi media KF Streptococcus. Cawan petri diinkubasi selama 48 jam pada temperatur $35 \pm 0,5$ °C. Pemurnian dilakukan dengan cara mengambil 1 ose koloni bakteri dan menumbuhkannya secara aseptis pada cawan petri dengan media yang sesuai. Selanjutnya, dilakukan inkubasi selama dua hari pada suhu yang sesuai, untuk melihat keberadaan kontaminan pada media pertumbuhan. Bila terdapat kontaminan, maka dilakukan pemurnian ulang.

2.2. Kinetika pertumbuhan isolat

Percobaan kinetika pertumbuhan tiap isolat dilakukan seperti yang telah disebutkan di atas. Isolat ditumbuhkan pada media tersebut dan diinkubasikan pada suhu yang sesuai dan diaduk pada kecepatan 90 rpm. Setiap interval waktu tertentu dilakukan peneraan *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Dari OD terukur dicari waktu generasi (g), konstanta *instantaneous growth rate* (μ) dan konstanta kecepatan pertumbuhan (k), berdasarkan persamaan 1 (Prescott et al., 1999 dengan modifikasi):

$$k = \frac{\log X_t - \log X_0}{0,301 t} \quad (1)$$

$$0,301 t$$

$$g = 1/k$$

$$Q = 0,693 * k$$

keterangan :

$$X_n = \text{OD pada } t = n$$

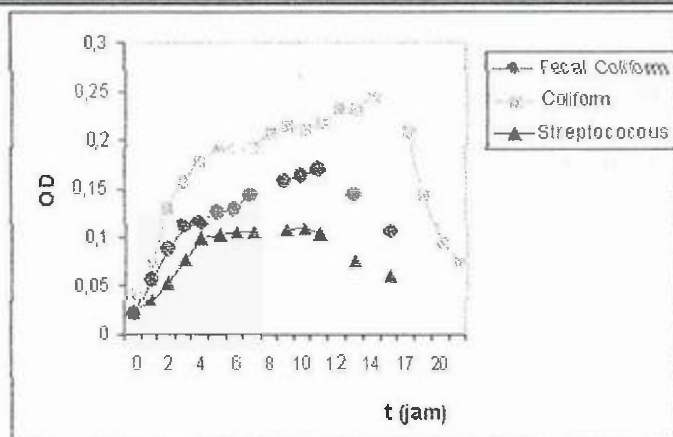
$$X_0 = \text{OD pada } t = 0$$

$$t = \text{selisih waktu pengukuran}$$

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pola Kurva Pertumbuhan Bakteri

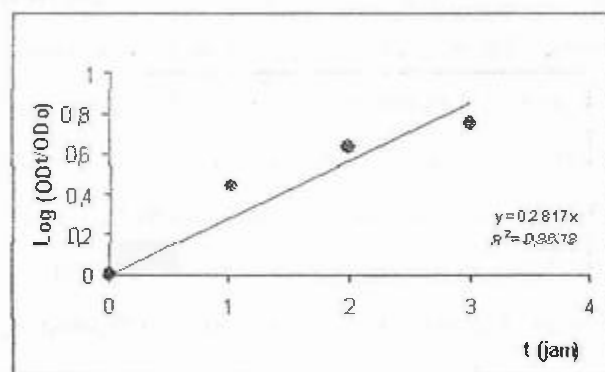
Dari tiga kelompok bakteri patogen yang berhasil diisolasi (Fecal Coliform, Coliform dan Streptococcus), telah dilakukan studi kinetika pertumbuhannya. Gambar 1 menunjukkan pola pertumbuhan dari ketiga kelompok bakteri tersebut. Dari gambar 1 terlihat bahwa fase lag telah terlewati oleh karena kerapatan optik (OD) yang terekam sejak $t = 0$, langsung meningkat pada satu jam berikutnya. Peningkatan nilai OD yang cukup signifikan terjadi selama 4 jam pertama untuk ketiga kelompok bakteri, erat kaitannya dengan fase eksponensial, dengan kisaran OD 0.1 – 0.12. Untuk Fecal Coliform dan Coliform, nilai OD cenderung meningkat setelah $t = 4$ jam, walaupun dengan kecepatan yang lebih rendah, sementara untuk Streptococcus nilai OD relatif konstan. Tampaknya fase stasioner Fecal coliform dan Streptococcus hampir sama yaitu dalam kisaran waktu 4 – 11 jam, dengan OD maksimal dalam kisaran 0.16 dan 0.1. Sementara untuk Coliform agak lebih lama sekitar 15 jam, dengan OD maksimal dalam kisaran 0.25. Di atas selang waktu tersebut, nilai kerapatan optik cenderung menurun (fase kematian) untuk mencapai kisaran OD semula.



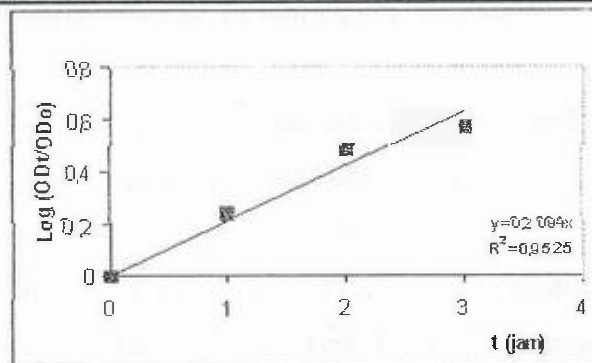
Gambar 1.: Pola pertumbuhan isolat bakteri

3.2. Parameter Kinetika Pertumbuhan

Untuk menentukan parameter kinetika pertumbuhan dari ketiga kelompok bakteri, telah digunakan persamaan 1, dengan mengganti nilai X_t dan X_0 dari persamaan tersebut dengan nilai OD_t dan OD_0 . Dengan membuat grafik hubungan antara $\log (OD_t/OD_0)$ vs t , maka akan diperoleh garis linear. Kemiringan dari persamaan garis ini merupakan konstanta yang nilainya sama dengan k . Gambar 2, 3 dan 4 memperlihatkan hubungan linear dimaksud untuk ketiga kelompok bakteri. Dari gambar 2, 3 dan 4 ini terlihat bahwa Fecal Coliform memiliki nilai kemiringan yang paling besar diikuti dengan Coliform dan Streptococcus. Hal ini mengindikasikan bahwa Fecal Coliform tumbuh lebih cepat dalam fase eksponensial dibandingkan dengan Coliform maupun Streptococcus.

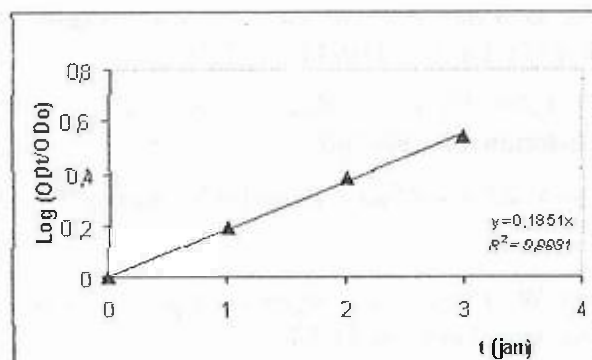


Gambar 2.: Grafik hubungan antara Log (X_t/X_0) vs t untuk Fecal Coliform



Gambar 3.: Grafik hubungan antara Log (X_t/X_o) vs t untuk Coliform

Tabel 1 merangkum hasil perhitungan parameter kinetika berdasarkan nilai k yang ditentukan berdasarkan persamaan garis Log (X_t/X_o) = $f(t)$. Terlihat bahwa Fecal Coliform memiliki nilai konstanta pertumbuhan yang paling besar 0.90 jam^{-1} , diikuti dengan Coliform 0.69 jam^{-1} dan Streptococcus 0.60 jam^{-1} . Demikian juga kecepatan pertumbuhan spesifik (μ) secara berturut-turut adalah 0.65 jam^{-1} , 0.48 jam^{-1} dan 0.43 jam^{-1} . Sementara waktu generasi (g) yang berbanding terbalik dengan k untuk masing-masing bakteri adalah : Fecal Coliform 1.06 jam, Coliform 1.40 jam dan Streptococcus 1.60 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa waktu pembelahan sel bakteri Fecal coliform lebih cepat dibandingkan dengan Coliform maupun Streptococcus. Secara umum nilai parameter kinetika pertumbuhan untuk ketiga jenis/kelompok bakteri tersebut berada dalam kisaran nilai yang dilaporkan dalam literatur. Untuk waktu generasi misalnya berada dalam kisaran 0.5 s/d 1.5 jam. Tetapi perlu dicatat bahwa nilai tersebut didapatkan dari isolat yang diperoleh di daerah sub tropis. Sementara data mengenai parameter kinetika pertumbuhan isolat ketiga jenis bakteri tersebut untuk daerah tropis seperti Indonesia masih sedikit sekali.



Gambar 4.: Grafik hubungan antara Log (X_t/X_o) vs t untuk Streptococcus

Tabel 1.: Hasil perhitungan parameter kinetika pertumbuhan bakteri

Jenis Bakteri	Persamaan $\text{Log } (Odt/ODo) = f(t)$	g (Jam)	k (Jam ⁻¹)	□ (Jam ⁻¹)
Fecal Coliform	$y=0.2817 * x$	1.06	0.90	0.65
Coliform	$y=0.2094 * x$	1.40	0.69	0.48
Streptococcus	$y=0.1851 * x$	1.60	0.60	0.43

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dalam kultur murni, ketiga jenis bakteri yaitu Fecal Coliform, Coliform dan Streptococcus, memiliki kecenderungan kurva pertumbuhan searah. Fase stasioner untuk ketiganya praktis dicapai dalam kisaran waktu 5 jam. Fase kematian untuk Fecal Coliform dan Fecal Streptococcus berada dalam kisaran 10 jam sementara untuk Coliform lebih lama yaitu sekitar 15 jam. Dari perhitungan parameter kinetika memperlihatkan bahwa Fecal Coliform memiliki waktu generasi (g) tercepat diikuti Coliform dan Fecal Streptococcus masing-masing 1.06, 1.4 dan 1.6 jam. Sementara kecepatan pertumbuhan spesifiknya (□) berkebalikan arah yaitu 0.65, 0.48 dan 0.43 jam⁻¹. Sedangkan kecepatan pertumbuhan rata-ratanya (k) masing-masing adalah 0.9, 0.69 dan 0.6 jam⁻¹. Menarik untuk dikaji selanjutnya sejauh mana pengaruh konsentrasi klorin terhadap kinetika pertumbuhan bakteri-bakteri tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Alearts, G & Santika, S. 1984. *Metode Penelitian Air*. Penerbit Usaha Nasional. Surabaya. Indonesia. hal 107,110-114,245-252.
- Atlas, R & Bartha, R. 1998. *Microbial Ecology Fundamental*. Cummings Science Publishing. California. pp 498-500.
- Fardios, S. 1992. *Pollusi Air dan Udara*. Penerbit Konservasi. Yogyakarta. hal 39,43.
- Frazier, W & Dennis.W. 1988. *Food Microbiology*. 4th edition. McGraw Hill Book Company. New York. pp.51,56

-
- Hurst, C.J. et al. 2002. *Manual of Environmental Microbiology*. Second Edition. ASM Press. Washington, D.C. pp 205,206,210,211,280,281.
- Miller, B.M & Warren. L. 1976. *Industrial Microbiology*. McGraw Hill Book Company. New York. pp. 375,380.
- Pelczar, M. J & E.C.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi I*. Jilid 2. Terjemahan Hadioetomo UI Press. Jakarta. pp 867-875.
- Prescott. L. M et al. 1999. *Microbiology*. Mc Graw Hill. New York. p 874.
- Reynolds, K.A. 2003. *Coliform Bacteria : A Failed Indicator of Water Quality?*. <http://www.wcp.net/colum.cfm?T=T&ID=2349>
- Schass, K. 2000. *The World of E. Coli*. <http://imprint.uwaterloo.ca/issues/061600/3Science/science01.shtml>