



JRT PPI 7 (2) (2016)

**Jurnal Riset  
Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri**

Journal homepage : [ejournal.kemenperin.go.id/jrtppi](http://ejournal.kemenperin.go.id/jrtppi)

**Kementerian  
Perindustrian**  
REPUBLIK INDONESIA

---

## **Komparasi analisis total coliform dan coli tinja dengan menggunakan metode *most probable number* (MPN) 5 tabung dan enzim substrat**

*The comparison of total coliform and fecal coli analisis using most probable number (MPN) 5 tubes and enzym substrate methods*

**Novarina Irnaning Handayani\***

Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri, Jl. Ki Mangunsarkoro No 6 PO Box: 829, Semarang 50136, Indonesia

---

### INFO ARTIKEL

*Sejarah Artikel :*

Diterima 30 Maret 2016

Direvisi 10 Juni 2016

Disetujui 24 Juni 2016

Dipublikasikan online

23 November 2016

*Keywords :*

total coliform

fecal coli

enzyme substrate

---

### ABSTRAK

Dalam pemantauan kualitas lingkungan untuk air minum, air bersih, air limbah dan air sungai, mensyaratkan aspek mikrobiologi parameter coliform dan atau coli tinja sebagai indikator pencemaran lingkungan. Pada saat ini metode yang paling banyak digunakan adalah *Most Probable Number* (MPN) 5 tabung yang memiliki waktu pengerjaan minimal 4 hari. Penelitian ini dilakukan untuk menjajaki kemungkinan pemakaian metode lain yang telah terstandarisasi dan memiliki beberapa keunggulan. Metode yang dipilih adalah enzim substrat. Uji laboratorium dilakukan dengan membandingkan hasil analisis antara MPN 5 tabung dan enzim substrat, masing-masing dengan ulangan 7 kali. Hasil komparasi menunjukkan bahwa analisa dengan menggunakan metode enzim substrat memberikan hasil yang lebih besar atau lebih sensitif dibanding MPN 5 tabung. Pada sampel yang mengandung bakteri coli yang tinggi, dalam hal ini pada sampel air limbah dan air sungai perbedaan hasil antara MPN 5 tabung dan enzim substrat sangat signifikan, sedangkan pada sampel dengan kandungan coli kecil atau tidak ada, hasil keduanya sama. Metode enzim substrat sangat direkomendasikan untuk sampel air minum dan air bersih sehingga akan memberikan hasil yang lebih meyakinkan bagi penggunaannya. Kandungan coliform pada sampel air minum dan air bersih walaupun sangat kecil akan benar-benar terdeteksi oleh metode yang memiliki sensitifitas lebih baik.

### ABSTRACT

Environmental quality monitoring for drinking water, clean water, wastewater and river water requires microbiological aspects such as coliform and fecal coli, as indicators of environmental pollution. At this time, the most widely used method for determining the extent of fecal coli and coliform contained in the water is MPN 5 tubes, which has a lead time of at least 4 days. This study aims is to explore the possibility of using other methods that have been standardized and has several advantages. The proposed method is an enzyme substrate. Laboratory tests were conducted by comparing the results of the analysis between MPN5 tubes and enzyme substrates, with the repeat of 7 times. The comparison showed that the method of analysis using the enzyme substrate results was greater or more sensitive than MPN 5 tubes. In samples containing high coliform bacteria, in this case on a sample of wastewater and river water, yield difference between MPN 5 tubes and the enzyme substrate was very significant, while in the little or no content of coli gave the same results. Enzyme substrate method is highly recommended for drinking water and clean water samples as it will provide more reliable results for its users. The content of coliform in drinking and clean water samples although very low detected, would actually be better detected by another method with high sensitivity.

© 2016 BBT PPI. All rights reserved.

---

\*Alamat korepondensi :

E-mail : [nova.bbtppi@yahoo.com](mailto:nova.bbtppi@yahoo.com) (N.I. Handayani)

## 1. PENDAHULUAN

Air merupakan kebutuhan pokok manusia. Kualitas air sangat menentukan derajat kesehatan karena air dapat dicemari oleh hadirnya mikroorganisme patogen. Mikroorganisme patogen ini dapat menyebabkan infeksi meskipun dalam jumlah yang sangat kecil. Air dapat dicemari oleh tiga jenis mikrobia yaitu virus, bakteri dan protozoa. Mikroorganisme tersebut ditularkan melalui jalur fekal-oral dan sebagian besar timbul secara langsung atau tidak langsung oleh kontaminasi dari sumber daya air oleh limbah atau hewan (Gleeson dan Gray, 1997)

Salah satu parameter dalam pemantauan lingkungan kualitas air adalah parameter mikrobiologi dari jenis bakteri berupa total coliform dengan satuan MPN/100 mL. Robinson dkk. (2000) menyampaikan total coliform adalah salah satu organisme indikator pencemaran air. Selain coliform terdapat beberapa organisme diantaranya adalah koliform fekal, Enterococci, *Clostridium perfringens*, dan Clostridia pereduksi sulphit. Bakteri tersebut termasuk dalam familia Enterobacteriaceae. Jika terdapat mikroorganisme tersebut berarti air telah mengalami kontaminasi.

Suriawiria (2003) menyampaikan bahwa bakteri yang digunakan sebagai indikator pencemaran adalah coliform fekal (coli tinja) dan coliform karena jumlah koloninya pasti berkorelasi positif dengan keberadaan bakteri patogen. Selain itu, mendeteksinya jauh lebih murah, cepat, dan sederhana daripada mendeteksi bakteri patogenik lainnya.

Menurut FDA (2002) coliform bukan merupakan klasifikasi taksonomik namun definisi kerja yang merujuk pada kelompok bakteri enterik gram negatif, anaerob fakultatif, berbentuk batang, mendekomposisi laktosa dengan menghasilkan asam dan gas dalam waktu inkubasi 48 jam pada suhu 35°C.

Di Indonesia dalam pemantauan air minum berlaku regulasi Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 492 tahun 2010, di dalamnya terdapat satu parameter mikrobiologi yang disyaratkan yaitu total coliform sebesar 0 MPN/100 mL. Pada pemantauan kualitas air sumur, menurut Peraturan Menteri Kesehatan No. 416/MenKes/XI/1990 mensyaratkan maksimal coliform 10 MPN/100 mL untuk air perpipaan dan 50 MPN/100 mL untuk air nonperpipaan. Salah satu jenis air limbah yang mensyaratkan coliform adalah kegiatan rumah sakit dengan ambang batas 5000 MPN/100 mL. Kualitas air sungai menggunakan tolok ukur Peraturan Pemerintah Nomor 82 tahun 2001 mensyaratkan coliform dan coli tinja dalam setiap kategori kelas dengan satuan MPN/100 mL.

Sungai kelas I mensyaratkan 100 untuk coli tinja dan 1000 untuk coliform. Sungai Kelas II mensyaratkan 1000 untuk coli tinja dan 5000 untuk coliform. Sungai Kelas III dan Kelas IV mensyaratkan 2000 untuk coli tinja dan 10000 untuk coliform.

Beberapa metode analisis yang dapat digunakan dalam pengujian total coliform dan fecal coli diantaranya adalah membran filtrasi, *Most Probable Number* (MPN), media mineral modifikasi glutamat, dan metode enzim substrat (Robinson dkk., 2000)

Pada saat ini metode analisis yang paling banyak digunakan adalah MPN 5 tabung, dengan beberapa kelemahan diantaranya adalah pengerjaan yang memerlukan waktu cukup lama yaitu 5 (lima) hari. Persiapan bahan dan alat 1 (satu) hari, uji pendugaan memerlukan masa inkubasi 2 (dua) hari dan uji penegasan juga memerlukan masa inkubasi 2 (dua) hari, total pengerjaan memerlukan waktu 5 (lima) hari.

MPN merupakan suatu metode statistik berbasis teori kemungkinan. Caranya dibuat seri beberapa tabung dalam tingkat pengenceran yang berbeda hingga didapat konsentrasi mikroorganisme yang sesuai jika ditanam di media dalam tabung sehingga menghasilkan pertumbuhan positif. Kemunculan tabung positif tergantung dari probabilitas sel yang terambil oleh pipet saat memasukkan dalam media. Homogenasi menjadi faktor yang sangat berpengaruh (FDA, 2010). Uji positif ditentukan berdasar terbentuknya asam dan gas yang disebabkan fermentasi laktosa oleh bakteri golongan coli. Terbentuknya asam dilihat dari kekeruhan pada media laktosa dan gas yang dihasilkan dapat dilihat dalam tabung Durham berupa gelembung udara (Sutton, 2010).

Metode uji lain yang berpeluang untuk digunakan adalah metode enzimatik. Nikaen dkk. (2009) menyebutkan bahwa penggunaan pengujian secara enzimatik memiliki kelebihan yaitu spesifik, sensitif, dan cepat. Salah satu metode enzimatik yang dapat digunakan adalah dengan menggunakan reagen Colilert yang telah terstandarisasi dan termuat dalam APHA AWWA. Metode ini menggunakan prinsip semi kuantitatif yang sama dengan metode MPN 5 tabung. Perbedaan terletak pada tabel yang digunakan. Metode enzim substrat juga telah diakui oleh AOAC internasional dan US EPA.

Secara umum uji enzimatik untuk deteksi total coliform dan coli tinja didasarkan pada hidrolisis substrat kromogenik dan fluorogenik oleh *beta galaktosidase* dan aktivitas *beta glucuronidase*, dua enzim yang ditemukan dalam total coliform (George dkk., (2000); Rompre' dkk., (2002)). Pengujian enzim substrat menggunakan Colilert

membutuhkan waktu inkubasi lebih cepat. Menurut IDEXX, prinsip kerja analisis dengan metode enzim substrat adalah terjadinya reaksi antara enzim *beta galaktosidase* yang terdapat dalam coliform dengan ONPG (yang terdiri atas *beta D galaktopiranoside* dan *orthonitrophenil*) sebagai kromogenik dan fluorogenik substrat yang dimasukkan ke dalam sampel sehingga terjadi reaksi enzim substrat yang menimbulkan warna kuning sebagai indikator terdapatnya coliform. Jika negatif tidak akan timbul warna kuning.

Leclerc dkk. (2001) menyebutkan bahwa penggunaan *beta galaktosidase* sebagai indikator adanya golongan Enterobacter (diantaranya coliform dan coli tinja) merupakan cara yang paling komprehensif untuk dilakukan. Sedangkan Rompre dkk. (2002) juga menyampaikan bahwa deteksi coliform berdasarkan metode aktivitas enzimatis akan meningkatkan sensitivitas. IDEXX telah mengeluarkan rekomendasi bahwa metode enzim substrat ini dapat digunakan untuk menganalisis coliform dan coli tinja dalam air minum dan air limbah, sedangkan Kramer (2002) bahkan merekomendasikan Colilert digunakan untuk uji coliform dalam limbah padat.

Pada penelitian terdahulu, Fricker dkk. (1997) telah membandingkan hasil pengukuran *E. coli* dengan menggunakan Colilert dan membran filtrasi, ternyata tidak menunjukkan perbedaan hasil yang signifikan diantara keduanya. Bahkan Colilert dapat dijadikan metode alternatif sebagai pengganti metode membran filtrasi untuk monitoring bakteriologi air minum.

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan komparasi metode uji total coliform dan coli tinja dengan menggunakan metode semi kuantitatif dengan satuan MPN/100 ml antara MPN 5 tabung dan enzim substrat, agar nantinya didapatkan data hasil analisis masing-masing dan apakah terdapat perbedaan hasil uji diantara keduanya.

## 2. METODE PENELITIAN

Kegiatan penelitian ini dilakukan dengan membandingkan hasil analisis coliform dan coli tinja menggunakan 2 metode dasar yaitu MPN 5 tabung (sesuai SNI 01-2897-1992 Cara Uji Cemar Mikroba dan *Standard Methods Microbial Examination (9000) 9221 Multiple Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group* dan metode enzim substrat berdasar pada *Standard Methods 9223*. Komparasi metode uji dilakukan

dengan menggunakan 4 (empat) jenis air yaitu air limbah, air sumur, air minum dan air sungai. Sesuai dengan baku mutunya, untuk air limbah menggunakan air limbah rumah sakit dengan syarat total coliform, air sumur dengan syarat total coliform, air minum dengan syarat total coliform dan air sungai dengan syarat total coliform dan coli tinja.

Masing-masing jenis air akan diuji dengan menggunakan metode MPN 5 tabung dan menggunakan metode enzim substrat *IDEXX Colilert-18 cat WP2001-18* secara bersamaan dengan menerapkan prinsip keterulangan. Setiap jenis metode akan dilakukan berulang 7 (tujuh) kali oleh analis yang sama, jenis peralatan yang sama, dan interval waktu yang pendek (hampir bersamaan).

Bahan untuk analisis coliform dan coli tinja dengan metode MPN adalah *Lactose Broth (LB)* untuk uji pendugaan/sangkaan, *Brilliant Green Lactose Bile Broth 2% (BGLB)* untuk uji penegasan, dan cairan pengencer yang mengandung NaCl 0,85% untuk media pengenceran bahan. Alat yang digunakan dalam uji komparasi adalah *laminar air flow (LAF)*, *vortex mixer* untuk menghomogenkan contoh pada saat pengenceran, tabung reaksi, tabung durham, pipet ukur atau pipetor dengan tipnya, ose, serta inkubator. Bahan yang digunakan untuk metode analisa enzim substrat adalah menggunakan IDEXX Colilert-18 cat WP2001-18 beserta quantitray cat WQT2K. Alat yang digunakan adalah sealer quantitray dan inkubator.

Cara pengerjaan untuk metode MPN mengacu pada SNI 01-2897-1992 Cara Uji Cemar Mikroba dan *Standard Methods 9221*, sedangkan cara pengerjaan dengan metode enzim substrat menggunakan dasar *Standard Methods no 9223* didukung dengan petunjuk penggunaan dan pengerjaan yang dikeluarkan oleh *IDEXX Colilert-18 cat WP2001-18*. Cara pengujian dengan metode MPN 5 tabung meliputi 2 (dua) tahapan yaitu :

### 1. Tahap uji sangkaan/pendugaan

Pada tahapan ini media yang digunakan adalah *Lactose Broth (LB)* yang telah disiapkan dalam tabung reaksi berisi tabung durham terbalik. Pipet 1 mL pengenceran contoh  $10^{-1}$  (1:10) ke dalam 5 tabung yang telah disiapkan. Dengan cara yang sama dilakukan untuk pengenceran  $10^{-2}$  (1:100) dan  $10^{-3}$  (1:1000). Tiap pengenceran

menggunakan pipet baru yang steril dan dipastikan homogenitasnya dengan menggunakan *vortex mixer*. Seluruh tabung diinkubasikan dalam inkubator pada suhu  $36\pm 1^\circ\text{C}$  selama 24 dan 48 jam. Setelah inkubasi 24 jam jumlah tabung yang membentuk gas pada masing-masing pengenceran dicatat dan tabung yang belum membentuk gas diinkubasikan kembali pada suhu yang sama selama 24 jam kedua. Tabung yang menghasilkan gas dicatat.

## 2. Tahap uji penegasan

Uji penegasan hanya dilakukan untuk tabung yang membentuk gas pada media *Lactose Broth* (LB). Satu ose media positif membentuk gas diambil dan dipindahkan ke tabung reaksi berisi media *Brilliant Green Lactose Bile Broth* (BGLB 2%). Inkubasi dilakukan selama 24 hingga 48 jam pada suhu  $36\pm 1^\circ\text{C}$  untuk analisis coliform dan  $44\pm 1^\circ\text{C}$  untuk analisis coli tinja. Tabung yang menunjukkan terbentuknya gas dicatat sebagai tabung positif dan hasil analisis dilihat dari tabel MPN 5 tabung.

Cara pengujian dengan menggunakan metode enzim substrat menggunakan *IDEXX Colilert-18 cat WP2001-18* dilakukan dengan urutan:

1. *Quantitray* dipegang dengan menggunakan tangan kiri dalam genggam tangan, sisi yang berkotak ada dalam sisi dalam tangan.
2. *Quantitray* ditekan bagian atas menuju telapak tangan.
3. *Foil* ditarik perlahan untuk memisahkan *foil* dari *tray*.
4. Sampel uji sebanyak 100 ml dimasukkan dalam *quantitray* dan kontak dengan *foil tab* dihindari. Sumur-sumur kecil dalam *quantitray* ditekan untuk menghilangkan gelembung udara yang terjadi.
5. *Quantitray* yang telah berisi sampel direkatkan dalam karet pencetak dan dimasukkan ke dalam *quantitray sealer* yang telah dipanaskan terlebih dahulu.
6. Selanjutnya siap diinkubasi selama 18 jam dalam inkubator di suhu  $36^\circ\text{C}$  untuk coliform dan  $44^\circ\text{C}$  untuk coli tinja (Gil Dichter IDEXX, 2011).

## 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian di laboratorium menunjukkan bahwa, sampel yang terdeteksi mengandung coliform dan

colitinja dengan menggunakan metode enzim substrat memberikan hasil yang lebih besar dibanding dengan menggunakan metode MPN 5 tabung, hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 1 hingga 5.

Dari Tabel 1 terlihat bahwa ternyata dari 7 ulangan yang dilakukan, untuk sampel yang tidak mengandung coliform pada sampel AMDK dan sumur menunjukkan hasil yang konsisten yaitu 0 MPN/100 mL. Pada sampel sungai dan limbah cair rumah sakit yang mengandung coliform maupun coli tinja sesuai dengan persyaratan baku mutunya ternyata dari 7 kali ulangan memiliki hasil yang berbeda-beda. Range hasil analisis coliform pada sungai antara 33.000 MPN/100 mL hingga 79.000 MPN/100 mL, sedangkan pada coli tinjanya antara 4.000 MPN/100 mL hingga 17.000 MPN/100 mL. Namun demikian, terdapat hasil yang identik yaitu pada ulangan 5 dan ulangan 7. Keadaan yang sama terjadi pada hasil pengerjaan coliform sampel air limbah rumah sakit. Dengan sampel yang sama hasil analisis antara 17 hingga 47 MPN/100 mL.

Kondisi ini menunjukkan bahwa toleransi keberagaman data untuk MPN cukup besar dan standar deviasi data bisa mencapai 50%. Hasil analisis yang beragam ini dapat disebabkan oleh probabilitas dalam pengambilan sampel uji yang hanya mengambil 1 mL untuk mewakili data 100 mL. Homogenitas dalam pengambilan sampel menjadi hal yang sangat mutlak.

Hasil analisis dengan menggunakan metode enzim substrat untuk sampel air sumur dan air minum menunjukkan hasil yang relatif seragam. Jika menurut tabel MPN 5 tabung tidak ada hasil positif itu ditunjukkan dengan angka 0 MPN/100 mL, maka untuk enzim substrat ditunjukkan dengan  $<1$  MPN/100 mL. Hasil uji menunjukkan bahwa hasil analisis enzim substrat untuk sampel-sampel yang tidak mengandung coliform maupun coli tinja sangat stabil.

Sampel air minum dan air bersih biasanya memiliki kandungan coliform yang rendah. Penggunaan metode yang sensitif akan memberikan hasil yang lebih menyakinkan pengguna air minum maupun air bersih. Kandungan coliform pada air minum walaupun sangat kecil akan benar-benar terdeteksi oleh metode yang memiliki sensitifitas lebih baik.

**Tabel 1.** Hasil analisis sampel menggunakan metode MPN 5 tabung

| Ulangan | Hasil MPN per 100 mL |                   |                    |                      |                         |
|---------|----------------------|-------------------|--------------------|----------------------|-------------------------|
|         | AMDK<br>Coliform     | Sumur<br>Coliform | Sungai<br>Coliform | Sungai<br>Coli tinja | Rumah sakit<br>Coliform |
| 1       | 0                    | 0                 | 64.000             | 17.000               | 47                      |
| 2       | 0                    | 0                 | 33.000             | 17.000               | 33                      |
| 3       | 0                    | 0                 | 79.000             | 4.500                | 17                      |
| 4       | 0                    | 0                 | 70.000             | 7.800                | 28                      |
| 5       | 0                    | 0                 | 70.000             | 17.000               | 24                      |
| 6       | 0                    | 0                 | 33.000             | 4.000                | 26                      |
| 7       | 0                    | 0                 | 70.000             | 17.000               | 33                      |

**Tabel 2.** Hasil analisis air minum dengan enzim substrat

| No        | Hasil Analisis Air Minum |                        |
|-----------|--------------------------|------------------------|
|           | Analisis 1<br>Coliform   | Analisis 2<br>Coliform |
| 1         | <1                       | <1                     |
| 2         | <1                       | <1                     |
| 3         | <1                       | <1                     |
| 4         | <1                       | <1                     |
| 5         | <1                       | <1                     |
| 6         | <1                       | <1                     |
| 7         | <1                       | <1                     |
| Rerata    | <1                       | <1                     |
| Tertinggi | <1                       | <1                     |
| Terendah  | <1                       | <1                     |

**Tabel 3.** Hasil analisis air sumur dengan enzim substrat

| No        | Hasil Analisis Air Sumur |                        |
|-----------|--------------------------|------------------------|
|           | Analisis 1<br>Coliform   | Analisis 2<br>Coliform |
| 1         | <1                       | <1                     |
| 2         | <1                       | 1                      |
| 3         | <1                       | <1                     |
| 4         | <1                       | <1                     |
| 5         | <1                       | <1                     |
| 6         | <1                       | 1                      |
| 7         | <1                       | <1                     |
| Rerata    | <1                       | <1                     |
| Tertinggi | <1                       | <1                     |
| Terendah  | <1                       | <1                     |

**Tabel 4.** Hasil analisis limbah cair rumah sakit dengan enzim substrat

| No        | Hasil Analisis Air Limbah Rumah Sakit |                          |                        |                          |
|-----------|---------------------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|
|           | Analisis 1<br>Coliform                | Analisis 1<br>Coli tinja | Analisis 2<br>Coliform | Analisis 2<br>Coli tinja |
| 1         | 1732,9                                | 149,7                    | 1732,9                 | 139,6                    |
| 2         | 1553,1                                | 150                      | 1732,9                 | 137,6                    |
| 3         | 1986,3                                | 178,9                    | 1986,3                 | 120,1                    |
| 4         | 1986,3                                | 146,7                    | 2419,6                 | 151,5                    |
| 5         | 2419,6                                | 145                      | 2419,6                 | 162,4                    |
| 6         | 1986,3                                | 143,9                    | 1553,1                 | 178,9                    |
| 7         | 1986,3                                | 172,2                    | 1986,3                 | 160,7                    |
| Rerata    | 1950,1                                | 155,2                    | 1975,81                | 150,11                   |
| Tertinggi | 2419,6                                | 178,9                    | 2419,6                 | 178,9                    |
| Terendah  | 1553,1                                | 143,9                    | 1553,1                 | 120,1                    |

Hasil analisis limbah cair rumah sakit (Tabel 4) dan hasil analisis air sungai dengan metode enzim substrat (Tabel 5) menunjukkan toleransi keberagaman yang cukup tinggi dilihat dari nilai tertinggi dan terendah yang dicapai, namun demikian untuk enzim substrat cenderung memiliki data yang saling mendekati dibanding MPN 5 tabung. Hasil analisis statistik dengan menggunakan Anova menunjukkan

bahwa pada sampel coliform rumah sakit, coli tinja rumah sakit, dan coliform sungai antara analisis 1 dan analisis 2 memiliki nilai signifikansi di atas 0,05 yang artinya tidak ada beda nyata diantara keduanya. Namun antara MPN 5 tabung dan enzim substrat terdapat perbedaan hasil yang sangat signifikan.

**Tabel 5.** Hasil analisis air sungai dengan enzim substrat

| No        | Hasil Analisis Air Sungai (Pengenceran $10^{-3}$ ) |            |            |            |
|-----------|--|------------|------------|------------|
|           | Analisis 1   |            | Analisis 2 |            |
|           | Coliform   | Coli tinja | Coliform   | Coli tinja |
| 1         | 248.900  | 26.200     | 307.600    | 6.300      |
| 2         | 360.900  | 19.700     | 325.500    | 14.600     |
| 3         | 334.800  | 16.000     | 235.900    | 11.000     |
| 4         | 365.400  | 12.200     | 435.900    | 14.800     |
| 5         | 365.400  | 17.100     | 261.100    | 12.100     |
| 6         | 365.400  | 20.100     | 488.400    | 18.700     |
| 7         | 328.400  | 20.100     | 249.500    | 14.600     |
| Rerata    | 338.457  | 18.771     | 364.771    | 13.157     |
| Tertinggi | 365.400  | 26.200     | 235.900    | 18.700     |
| Terendah  | 248.900  | 12.200     | 488.400    | 6.300      |

Hasil analisis enzim substrat cenderung lebih besar dibanding MPN 5 tabung. Sensitifitas hasil yang lebih tinggi ini kemungkinan disebabkan oleh jumlah sampel yang digunakan pada enzim substrat adalah 100 mL, sedangkan pada MPN 5 tabung hanya 1 mL dan dikayakan. Jumlah coliform ataupun colitinja yang ada dalam 100 mL sampel dapat teridentifikasi semua, selain itu prinsip dasar enzim substrat adalah mendeteksi adanya enzim beta galaktosidase yang terdapat dalam bakteri coli, sehingga seluruh bakteri yang hidup dan bermetabolisme dengan baik yang ditunjukkan dengan aktifnya enzim beta galaktosidase akan terekam oleh metode ini.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan kelebihan metode enzimatik. Dari segi sensitifitas metode enzim substrat lebih baik, seperti disampaikan Rompre' dkk. (2002) bahwa pada perolehan angka rendah (1-3) dari organisme target dapat terdeteksi oleh laser scanning enzim substrat namun tak terdeteksi oleh metode MPN 5 tabung. Penambahan substrat fluorogenik dan kromogenik pada media (agar dan media cair) untuk mendeteksi aktivitas enzimatik dari total coliform dan coli tinja memiliki sensitivitas dan kecepatan analisis yang lebih dibanding metode klasik dalam memperkirakan kontaminasi mikroba air. Teknologi enzim substrat lebih unggul dibandingkan yang lain karena memiliki prinsip hanya mikrobiasasaran yang bereaksi, tidak ada substrat yang digunakan untuk metode lainnya. Di sisi lain Timms (1996) menyebutkan bahwa reaksi enzimatik untuk deteksi coliform maupun E.

coli telah terbukti secara substansial mengurangi kebutuhan tenaga kerja.

Dari pengamatan pada saat pengerjaan, metode enzim substrat sederhana dalam pengerjaan, tidak memerlukan analisis dengan ketrampilan mikrobiologi yang khusus seperti halnya untuk pengerjaan MPN, waktu yang diperlukan lebih cepat hanya 18 jam, dan alat memungkinkan untuk dibawa ke lapangan, namun jika dilihat dari biaya bahan enzim substrat lebih mahal. Sedangkan kelebihan metode MPN adalah biaya bahan lebih murah.

Berdasar hasil uji coba di laboratorium yang telah dilakukan, metode enzim substrat baik digunakan untuk analisis air minum dan air sumur yang mensyaratkan ketelitian yang lebih tinggi untuk meyakinkan penggunaannya (hubungannya dengan kualitas air konsumsi). EPA (1992) juga memberikan rekomendasi penggunaan metode enzim substrat untuk identifikasi coliform dalam air minum.

#### 4. KESIMPULAN

Hasil komparasi metode uji coliform dan coli tinja dengan membandingkan hasil analisis menggunakan metode MPN 5 tabung dan enzim substrat menunjukkan bahwa metode enzim substrat memberikan hasil uji yang lebih besar atau lebih sensitif dibanding MPN. Pada sampel yang mengandung bakteri coli yang tinggi, dalam hal ini pada sampel air limbah dan air sungai perbedaan hasil antara MPN 5 tabung dan enzim substrat sangat signifikan.

Berdasar hasil perbandingan saat ini, metode enzim substrat sangat direkomendasikan untuk sampel air minum dan air bersih sehingga akan memberikan hasil yang lebih meyakinkan bagi penggunaannya. Kandungan coliform pada sampel air minum dan air bersih walaupun sangat kecil akan benar-benar terdeteksi oleh metode yang memiliki sensitifitas lebih baik.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Balai Besar Teknologi Pencegahan Pencemaran Industri yang mendanai penelitian ini melalui dana *inhouse* riset 2015, PT Thermalindo yang telah meminjam sealer *Colilert* untuk uji coba metode enzim substrat, serta Erni Susanti, Analis Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi Lingkungan yang telah membantu selama uji coba.

## DAFTAR PUSTAKA

- American Public Health Association (APHA)., American Water Works Association and Water Environment Federation., 1998, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed., APHA, Washington DC.
- AOAC International., 1995, Official Methods of Analysis, 991.15.T. Coliforms and E.coli in Water: Defined Substrate Technology (Colilert) Methods, Virginia, USA.
- Dichter G., 2011, IDEXX Colilert\*-18 and Quanti-Tray\* Test Method for the Detection of Fecal Coliforms in Wastewater, IDEXX.
- EPA., 1992, National Primary Drinking Water Regulation, Analytical Techniques, Coliform Bacteria Final Rules.
- Fricker EJ., Illingworth KS., Fricker CR., 1997, Use of two formulation of colilert and quantitray tm for assessment of bacteriological quality of water, Wat Res 31(10):2495-2499.
- George I., Petit M., Servais P., 2000, Use of enzymatic methods for rapid enumeration of coliforms in freshwaters, J Appl Microbiol 88(3):404-413.
- Gleeson C., Gray N., 1997, The Coliform Index and Waterborn Disease, Problem of Microbial Drinking Water Assessment, Trinity College, University of Dublin, E and FN Spoon, London, Weinheim, New York, Tokyo, Melbourne, Madras.
- IDEXX Laboratories Inc (IDEXX), 2007, Colilert Test Kit, Westbrook, Maine.
- Kramer TA., Liu J., 2002, Enumeration of coliform bacteria in wastewater solids using defined substrate technology, Water Environment Research 74(6).
- Leclerc H., Mossel DAA., Edberg SC., Struijk CB., 2001, Advanced in the bacteriology of the coliform group: their suitability as markers of microbial water safety, Annu Rev Microbiol 55:201-34.
- Nikaeen M., Pejhan A., Jalali M., 2009, Rapid monitoring of indicator coliforms in drinking water by an enzymatic assay, Iran J Environ. Health Sci Eng 6(1):7-10.
- Peraturan Pemerintah Nomor 82 tahun 2001, Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air.
- Peraturan Daerah Jawa Tengah Nomor 5 tahun 2012, Perubahan atas Peraturan Daerah Provinsi Jawa Tengah Nomor 10 tahun 2004 tentang Baku Mutu Air Limbah.
- Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 416 tahun 1990, Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air Lampiran II Daftar Persyaratan Kualitas Air Bersih.
- Peraturan Menteri Kesehatan Nomor 492 tahun 2010, Persyaratan Kualitas Air Minum.
- Robinson RK., Batt CA., Patel P., 2000, Water Quality Assessment, Encyclopedia of Food Microbiology, Academic Press, San Diego, California
- Rompere A., Servais P., Baudart J., Roubin MR., Laurent P., 2002, Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging approaches, Journal of Microbiological Methods 49:31 - 54.
- Suriawiria U., 2003, Mikrobiologi Air dan Dasar-dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis, Bandung Alumni, Bandung

Sutton S., 2010, The most probable number method and its uses in enumeration, qualification, and validation, *Journal of Validation Technology*.

Timms S., Colquhoun KO., Fricker CR., 1996, Detection of *Escherichia coli* in potable water using indirect

impedance technology, *Journal of Microbiological Methods* 26:125-132.

US Department Health and Human Services, 2010, *Bacteriological Analytical Manual, Most Probable Number from Serial Dilutions*, US Food and Drug Administration