

TA/TL/2023/1748

TUGAS AKHIR

DETEKSI INDIKATOR MIKROBIOLOGI LINGKUNGAN

(Bacteriophage, Total Coliform, Escherichia coli,

Salmonella typhimurium dan Shigella, sp.)

PADA SUNGAI CODE

Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan

Memperoleh Derajat Sarjana (S1) Teknik Lingkungan



DESY RAHMADHANI

19513139

**PROGRAM STUDI TEKNIK LINGKUNGAN
FAKULTAS TEKNIK SIPIL DAN PERENCANAAN**

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

2023

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DETEKSI INDIKATOR MIKROBIOLOGI LINGKUNGAN
(Bacteriophage, Total Coliform, Escherichia coli,
Salmonella typhimurium dan Shigella, sp.)
PADA AIR SUNGAI CODE

**Diajukan Kepada Universitas Islam Indonesia untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Derajat Sarjana (S1) Teknik Lingkungan**



DESY RAHMADHANI
19513139

Disetujui,
Dosen Pembimbing:

 9/11

Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng
NIK. 1651306

Tanggal:



Mengetahui,
Ketua Prodi Teknik Lingkungan FTSP UII

Any Juliani, S.T., M.Sc. (Res.Eng)., Ph.D
NIK. 045130401

Tanggal: 18/12/2023

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

HALAMAN PENGESAHAN
DETEKSI INDIKATOR MIKROBIOLOGI LINGKUNGAN
(Bacteriophage, Total Coliform, Escherichia coli,
Salmonella typhimurium dan Shigella, sp.)
PADA SUNGAI CODE

Telah diterima dan disahkan oleh Tim Penguji

Hari : Senin
Tanggal : 18 Desember 2023

Disusun Oleh:

DESY RAHMADHANI
19513139

Tim Penguji :

Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng.

Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D

Dr. Andik Yulianto, S.T., M.T.



()
()
()
18/12

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa:

1. Karya tulis ini adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik apapun, baik di Universitas Islam Indonesia maupun di perguruan tinggi lainnya.
2. Karya tulis ini adalah merupakan gagasan, rumusan dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain kecuali arahan Dosen Pembimbing.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama penulis dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Program *software* komputer yang digunakan dalam penelitian ini sepenuhnya menjadi tanggungjawab saya, bukan tanggungjawab Universitas Islam Indonesia.
5. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dengan pencabutan gelar yang sudah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi.

Yogyakarta, 20 Desember 2023

Yang membuat pernyataan,



Desy Rahmadhani

NIM: 19513139

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

PRAKATA

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarokatuh

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul penelitian **DETEKSI INDIKATOR MIKROBIOLOGI LINGKUNGAN (*Bacteriophage, Total Coliform, E.coli, Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*) PADA SUNGAI CODE** yang dilaksanakan sejak Maret 2023. Penulisan laporan Tugas Akhir ini sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Strata Satu (S1) pada Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.

Dalam penyusunan laporan Tugas Akhir ini penulis mengalami banyak hambatan serta rintangan namun berkat adanya bantuan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak sehingga penulis dapat melalui tantangan tersebut. Maka, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Allah *subhanahu wa ta'ala* yang karena berkat nikmat sehat, kekuatan, kelancaran dan limpahan anugerah dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Tugas Akhir ini.
2. Bapak, Mama, Kakak dan Adik serta seluruh keluarga penulis yang selalu memberikan doa, kasih sayang, dan dukungan mulai dari perencanaan, pelaksanaan penelitian hingga pada penyusunan laporan Tugas Akhir ini.
3. Bapak Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng., selaku dosen pembimbing dalam memberikan bimbingan, arahan, dan masukan serta senantiasa menyediakan waktunya untuk membagikan ilmu, membantu dan mendampingi penulis baik secara langsung maupun tidak langsung selama proses menyelesaikan Tugas Akhir ini.
4. Ibu Annisa Nur Lathifah, S.Si., M.Biotech., M.Agr., Ph.D., selaku dosen penguji 1 dan Bapak Dr. Andik Yulianto, S.T., M.T., selaku dosen penguji 2 yang telah bersedia meluangkan waktu serta memberikan masukan terkait Tugas Akhir ini.

5. Seluruh dosen, staf dan keluarga besar Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia yang senantiasa memberikan pengajaran ilmu pengetahuan dan pengalaman selama menempuh studi S1 di Teknik Lingkungan FTSP UII.
6. Seluruh staf dan laboran di Laboratorium Teknik Lingkungan FTSP UII khususnya mba Rina Isnikartika, S.Si yang senantiasa memberikan bantuan, pengajaran ilmu pengetahuan dan pengalaman selama melakukan penelitian di Laboratorium Bioteknologi Teknik Lingkungan FTSP UII.
7. Teman-teman penulis baik dikampus maupun diluar kampus yang senantiasa memberikan semangat, keseruan dan telah banyak membantu penulis. Kalian *support system* terbaik sepanjang hayat 😊
8. DO KYUNGSOO, idol Korea favorite yang banyak menginspirasi
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan Tugas Akhir ini tidak luput dari kesalahan dan keterbatasan ilmu pengetahuan dari penulis. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun sebagai bahan evaluasi demi menjadikan laporan ini lebih baik. Semoga laporan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan dapat dijadikan sebagai referensi penelitian berikutnya.

Yogyakarta, 20 Desember 2023



Desy Rahmadhani

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

ABSTRACT

DESY RAHMADHANI. *Detection of Environmental Microbiological Indicators (Bacteriophage, Total Coliform, E.coli, Salmonella typhimurium and Shigella, sp.) in Code River. Supervised by Dr. Joni Aldilla Fajri, S.T., M.Eng.*

Every year, 829,000 people die from diseases directly caused by unsafe water, inadequate sanitation and poor hygiene practices. Increasing population growth and diverse activities and changes in land use have resulted in problems in the environment around the banks of the Code River becoming very complex so that the condition of the river's water quality is declining. Currently, the use of bacteriophages has been considered as a biological parameter in the virological examination of water or determining the quality of polluted river water. It is known that bacteriophages only attack bacteria that host them, so they have the potential to treat bacterial diseases in humans. Therefore, this study aims to determine the quality of microbiological parameters of Code River water including Bacteriophage, Total Coliform, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* and *Shigella, sp.* from 7 sample location sites tested and the relationship between bacteriophage and indicators of bacterial microorganisms using the Plaque Assay Method. From the results of the study, the maximum concentration of bacterial microorganisms indicator Total Coliform 5×10^3 CFU / mL *E.coli* 7.2×10^3 CFU / mL, *Salmonella typhimurium* 3×10^2 CFU / mL and *Shigella, sp* 0 CFU / mL. In this study the resulting bacteriophage plaques were negative. The undetection of bacteriophages can be influenced by several factors such as temperature, plaque that forms very small or inactivation of the virus being tested. There is a relationship between bacteriophages and indicators of bacterial microorganisms. That's because bacteriophages use bacterial cells to replicate and are generally very specific to a particular strain within a single bacterial species.

Keywords: *Water river, Code River, Environmental viruses (Bacteriophage), Indicators of microorganism,*

ABSTRAK

DESY RAHMADHANI. Deteksi Indikator Mikrobiologi Lingkungan (*Bacteriophage*, Total *Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*) Pada Sungai Code. Dibimbing oleh Dr. JONI ALDILLA FAJRI, S.T., M.Eng.

Meningkatnya pertumbuhan penduduk dan beragamnya aktivitas serta perubahan tata guna lahan mengakibatkan permasalahan di lingkungan sekitaran bantaran Sungai Code menjadi sangat kompleks sehingga kondisi kualitas air sungai tersebut semakin menurun. Saat ini, penggunaan *bacteriophage* telah dipertimbangkan sebagai parameter biologi dalam pemeriksaan virologi air atau menentukan kualitas air sungai yang tercemar. Selain itu, diketahui bahwa *bacteriophage* hanya menyerang bakteri yang menjadi *host* inang mereka saja, sehingga berpotensi dalam mengobati penyakit akibat bakteri pada manusia. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar kualitas parameter mikrobiologi air Sungai Code meliputi *Bacteriophage*, Total *Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* dari 7 *site* lokasi sampel yang diuji serta hubungan antara *Bacteriophage* dengan indikator mikroorganisme bakteri dengan menggunakan Metode *Plaque Assay*. Dari hasil penelitian, diperoleh kadar konsentrasi maksimum indikator mikroorganisme bakteri Total *Coliform* 5×10^3 CFU/mL *E.coli* 7.2×10^3 CFU/mL, *Salmonella typhimurium* 3×10^2 CFU/mL dan *Shigella, sp* 0 CFU/mL. Dalam penelitian ini plak *bacteriophage* yang dihasilkan adalah negatif. Tidak terdeteksinya *bacteriophage* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti temperatur, plak yang terbentuk berukuran sangat kecil atau inaktivasi dari virus yang diuji. Terdapat hubungan antara *bacteriophage* dan indikator mikroorganisme bakteri. Hal tersebut karena *bacteriophage* menggunakan sel bakteri untuk bereplikasi dan umumnya sangat spesifik untuk strain tertentu dalam spesies bakteri tunggal.

Kata kunci: Air sungai, Sungai Code, Virus *Bacteriophage*, Indikator Mikroorganisme Bakteri

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR ISI

COVER	
HALAMAN PENGESAHAN.....	
PERNYATAAN.....	
PRAKATA	i
ABSTRAK	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.5 Asumsi Penelitian	4
1.6 Ruang Lingkup.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Sungai Code	6
2.2 Virus.....	8
2.3 <i>Bacteriophage</i>	11
2.3 Indikator Mikroorganisme	18
2.4 Metode <i>Plaque Assay</i>	21
2.5 Penelitian Terdahulu	22
BAB III METODE PENELITIAN	23
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian	23

3.2	Alat dan Bahan.....	27
3.3	Prosedur Analisis Data.....	27
3.4	Studi Literatur	30
3.5	Metode Pengambilan Sampel Air Sungai	30
3.6	Metode Pengujian Sampel Air Sungai Code.....	31
3.7	Metode Pengujian <i>Bacteriophage</i>	31
	BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	41
4.1	Pengambilan Sampel Air Sungai	41
4.2	Hasil Uji <i>Bacteriophage MS2</i> dan <i>Qβ</i>	42
4.3	Hasil Isolasi Indikator Mikroorganisme	45
4.3.1	Hasil Isolasi Bakteri <i>Escherichia coli</i> dan <i>Total Coliform</i>	45
4.3.2	Hasil Isolasi Bakteri <i>Salmonella typhimurium</i> dan <i>Shigella Sp.</i>	47
4.4	Hubungan antara <i>Bacteriophage</i> dan Bakteri	49
4.5	Analisis Parameter Fisika.....	52
	BAB V SIMPULAN DAN SARAN	57
5.1	Simpulan	57
5.2	Saran.....	58
	DAFTAR PUSTAKA	60
	LAMPIRAN.....	69
	RIWAYAT HIDUP	76

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1. Data Kualitas Air Sungai Code Tahun 2022	8
Tabel 2. 2. Taksonomi, morfologi dan molekular karakteristik dari grup <i>Bacteriophage</i>	14
Tabel 2. 3. <i>Phage</i> yang sering digunakan untuk mengevaluasi kualitas air.....	16
Tabel 2. 4. Tinjauan Penelitian Terdahulu	22
Tabel 2.5. Langkah Preparasi Larutan Kimia.....	32
Tabel 2.6. Bahan media TYGB (TYGA)	33
Tabel 2. 7. Korelasi antara <i>Bacteriophage</i> dengan Bakteri <i>Total Coliform</i> , <i>E.coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> dan <i>Shigella</i>	50
Tabel 4.1. Lokasi Pengambilan Sampel Air Sungai Code	41
Tabel 4. 2. Data PFU/mL <i>Bacteriophage Qβ</i> dan <i>MS2</i>	43
Tabel 4. 3. Deteksi virus dan protozoa di pada air minum di Jepang	44

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Klasifikasi Virus	11
Gambar 2. 2. Representasi skematis dari jenis utama <i>phage</i>	12
Gambar 2. 3. Klasifikasi <i>Bacteriophage</i>	13
Gambar 2. 4. Siklus Lisis <i>Bacteriophage</i>	13
Gambar 2. 5. Siklus Lisogenik	14
Gambar 2.9. Skema penularan infeksi virus melalui air	16
Gambar 2. 8. Struktur <i>Bacteriophage</i>	17
Gambar 2.10. Plak terhadap <i>Shigella dysenteriae</i> tipe 1 dengan <i>double agar plating assay</i>	21
Gambar 3.1. Peta Titik Sampling Penelitian	23
Gambar 3.2. Sampling air sungai di Jembatan Perak.....	24
Gambar 3.3. Sampling air sungai di Jembatan Kamdamen	24
Gambar 3.4. Sampling air sungai di Jembatan Pogung.....	25
Gambar 3.5. Sampling air sungai di Jembatan Jambu	25
Gambar 3.6. Sampel air sungai di Jembatan Tungkak	26
Gambar 3.7. Sampel air sungai di Jembatan Imogiri Barat.....	26
Gambar 3. 8. Diagram Alir Penelitian.....	29
Gambar 3.9. Pengambilan sampel air Sungai Code	31
Gambar 3.10. (a) Pengujian <i>ex-situ</i> (b) Pengujian <i>in-situ</i>	31
Gambar 3.11. Preparasi pengujian <i>Bacteriophage</i>	34
Gambar 3. 12 Diagram Alir Preparasi <i>Re-Culture</i> Host Bakteri.....	35
Gambar 3.13. Inkubasi host bakteri di <i>Water Bath</i>	35
Gambar 3.14. Suspensi Putih dari <i>Re-Culture</i>	36
Gambar 3. 16. Diagram Alir Uji <i>Plaque Assay</i>	37
Gambar 3.17. Proses <i>Dilution Positive Control</i>	37
Gambar 3. 18. Contoh plak <i>bacteriophage</i>	38
Gambar 3.19. Inkubasi 1 x 24 jam	40
Gambar 4.1. Hasil Penelitian <i>Bacteriophage</i>	43

Gambar 4. 2. Bakteri <i>E.coli</i> dan <i>Total Coliform</i> yang tumbuh pada media <i>Cromocult Coliform Agar (CCA)</i>	46
Gambar 4. 3. Grafik Konsentrasi Bakteri <i>E.coli</i> dan <i>Total Coliform</i>	46
Gambar 4. 4. Bakteri <i>Salmonella typhimurium</i> yang tumbuh pada Media <i>Salmonella Shigela Agar (SSA)</i>	48
Gambar 4. 5. Grafik Konsentrasi Bakteri <i>Salmonella typhimurium</i> dan <i>Shigella, sp.</i>	48
Gambar 4.6. Data Hasil Parameter Fisika	53

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1** : Peralatan Penelitian
- Lampiran 2** : Hasil Pengujian Bakteri *E.coli*
- Lampiran 3** : Hasil Pengujian Bakteri *Total Coliform*
- Lampiran 4** : Hasil Pengujian Bakteri *Salmonella typhimurium*
- Lampiran 5** : Hasil Pengujian Bakteri *Shigella, sp.*
- Lampiran 6** : Pengujian *Bacteriophage MS2* dan *Q β* di Laboratorium
- Lampiran 7** : Kultur Media Bakteri *Escherichia coli*, *Total Coliform*,
Salmonella typhimurium dan *Shigella, sp.*
- Lampiran 8** : Pengambilan Sampel Air Sungai Code
- Lampiran 9** : Pengukuran Debit Air Sungai menggunakan *Current Meter*
- Lampiran 10** : Data Kualitas Air Sungai Kota Yogyakarta 2022
- Lampiran 11** : Baku Mutu Air Sungai Berdasarkan PP No.22 Tahun 2021
- Lampiran 12** : Parameter Biologi dalam Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No. 32 Tahun 2017

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air merupakan sumber penting bagi keberlangsungan hidup yang sangat rentan terhadap kontaminan. Salah satu sumber air yang memiliki peran penting bagi makhluk hidup dan ekosistem perairan adalah sungai. Namun, seiring dengan kemajuan teknologi dan pertumbuhan penduduk yang terus meningkat mengakibatkan terjadinya permasalahan yang semakin kompleks pada perairan sungai. Pencemaran sungai masih menjadi salah satu persoalan di berbagai negara, khususnya di negara berkembang seperti Indonesia. Pencemaran air dapat berasal dari sampah, limbah cair serta bahan pencemar lainnya yang dapat menghasilkan banyak limbah. Potensi pemukiman sebagai sumber pencemaran yang cukup tinggi karena menghasilkan limbah organik yang berasal dari olahan bahan makanan yang di produksi masyarakat. Setiap tahun, 829.000 orang meninggal akibat penyakit yang secara langsung disebabkan oleh air yang tidak aman, sanitasi yang tidak memadai dan praktik kebersihan yang buruk (UNICEF, 2023). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Masachessi *et al.*, (2021), dari data WHO tahun 2015 menyebutkan penyakit yang ditularkan melalui air menjadi isu global serta menyebabkan lebih dari 2,2 juta kematian pertahun dimana 1,4 juta adalah anak-anak, dan juga menyebabkan jumlah penyakit yang lebih tinggi setiap hari.

Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta merupakan provinsi yang memiliki beberapa sungai besar diantaranya Sungai Oyo, Sungai Opak, Sungai Gadjahwong, Sungai Code, dan Sungai Winongo. Diantara sungai-sungai tersebut, Sungai Code merupakan salah satu sungai terbesar yang berada di Kawasan Daerah Istimewa Yogyakarta dan memiliki lokasi yang strategis khususnya bagian tengah karena melewati kawasan perkotaan padat penduduk (Lupiyanto dan Wijaya, 2010). Secara fisik, kondisi kualitas air Sungai Code khususnya bagian tengah hingga hilir terlihat adanya indikasi tercemar dari segi perubahan warna, bau, kekeruhan

dan sebagainya. Air sungai dapat terkontaminasi oleh banyak faktor, diantaranya adalah faktor biologi yang disebabkan adanya mikroorganisme seperti bakteri, protozoa dan virus. Umumnya, mikroorganisme yang banyak ditemukan di lingkungan dan mencemari perairan antara lain bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* (*E.coli*). Tingginya bakteri *Coliform* dan *E.coli* di suatu perairan dapat mengindikasikan adanya kehadiran bakteri patogen yang lain (Widyaningsih et al., 2016). Kehadiran bakteri tersebut di Kota Yogyakarta dapat sejalan dengan tingginya komposisi sampah sisa makanan yang dihasilkan yakni sebesar 46.45% pada tahun 2022. Limbah organik dapat menjadi tempat yang subur bagi mikroorganisme untuk berkembangbiak termasuk bakteri patogen. Kehadiran bakteri patogen yang melebihi baku mutu dapat menyebabkan gangguan kesehatan pada manusia yang menggunakan air sungai untuk kebutuhan aktivitas sehari-hari.

Virus merupakan mikroorganisme yang dapat terjadi secara alami dalam bentuk infeksi (aktif) pada lingkungan perairan dan umumnya menginfeksi organisme bakteri dan parasit melalui aktivitas antropogenik. Virus yang menginfeksi bakteri dikenal sebagai "*bacteriophage*". *Bacteriophage* adalah virus *bacterial-specific* (Rogovski et al., 2021) yang paling melimpah di bumi dimana lebih dari 6300 telah ditemukan berdasarkan karakteristik morfologinya (Hussain et al., 2021). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kelimpahan antara bakteri dan *bacteriophage* yakni 1:5 (Rogovski et al., 2021). *Adenovirus* manusia (*HAdV*), *Rotavirus* A dan C (*RVA* dan *RVC*), Virus Hepatitis A dan E (*HAV* dan *HEV*), *Astrovirus* manusia (*HAstV*), *Norovirus* manusia (*HuNV*) dan *Enterovirus* (*EV*) merupakan jenis virus yang paling sering terdeteksi dalam sampel lingkungan (Fongaro et al., 2015).

Saat ini, penggunaan *bacteriophage* telah dipertimbangkan sebagai parameter biologi dalam pemeriksaan virologi air atau menentukan kualitas air yang tercemar. Diketahui bahwa *bacteriophage* hanya menyerang bakteri yang menjadi *host* inang mereka saja, sehingga berpotensi dalam mengobati penyakit akibat bakteri pada manusia. Namun, penelitian mengenai *bacteriophage* di Indonesia masih belum banyak dilakukan. Selain itu, dalam studi yang dilakukan

Deshanda, Putri *et al.*, (2018) menyebutkan bahwa penelitian terhadap *bacteriophage* belum diiringi pemanfaatannya pada pangan dan lingkungan sehingga belum tersedia secara komersial di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian terkait *bacteriophage* sangat diperlukan sebagai salah satu pilihan alternatif yang dapat dimanfaatkan untuk menjadi agen biokontrol dalam menginfeksi bakteri patogen dan indikator kehadiran virus lainnya yang ada di Sungai Code. Terdapat beberapa kelompok *bacteriophage* yang umum digunakan untuk menginfeksi bakteri yaitu *MS2*, *GA*, *SP*, *Q β* , *X174*, dan *UZI* (Ibrahim *et al.*, 2021). Berdasarkan laporan Ongunseitani *et al* (1992), *bacteriophage* umumnya ditemukan di lingkungan terutama pada sampel limbah cair yaitu sebesar $3,16 \times 10^6$ PFU/mL. Dalam beberapa tahun terakhir, telah banyak negara yang melakukan pengujian terhadap *bacteriophage* dengan menggunakan berbagai metode. Adapun metode yang paling umum digunakan yakni metode *Plaque Assay* dan metode PCR.

Oleh karena itu, dalam penelitian ini dilakukan analisis pengujian terhadap indikator mikrobiologi lingkungan yang meliputi *bacteriophage* menggunakan virus *MS2* dan *Q β* serta indikator bakteri Total coliform, *E.coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*. Adapun metode pengujian yang dilakukan yakni menggunakan uji *Plaque Assay* untuk mengidentifikasi F-RNA dalam sampel air sungai yang dikumpulkan serta melakukan analisis hubungan indikator mikroorganisme (Total Coliform, *E.coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*) dengan *Bacteriophage* di Sungai Code.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan masalah diatas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana kadar konsentrasi kualitas air Sungai Code berdasarkan parameter mikrobiologi (*Bacteriophage*, Total Coliform, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*)?
2. Bagaimana hubungan bakteri Total Coliform, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* terhadap indikator virus lingkungan (*Bacteriophage*) di Sungai Code?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui kadar kualitas air Sungai Code berdasarkan parameter mikrobiologi (*Bacteriophage*, *Total Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*)
2. Menganalisis hubungan bakteri *Total Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* terhadap indikator virus (*Bacteriophage*) di Sungai Code

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberi manfaat antara lain:

1. Bagi Mahasiswa
Dapat menambah pengetahuan serta pengalaman terkait analisis suatu permasalahan lingkungan terutama pada kualitas air berdasarkan parameter indikator mikrobiologi lingkungan di Sungai Code.
2. Bagi Masyarakat
Memberikan informasi, pemahaman maupun menjadi referensi ilmu kepada masyarakat terkait kualitas air sungai yang ditinjau berdasarkan indikator mikrobiologi lingkungan di Sungai Code.
3. Bagi Pemerintah
Memberikan tambahan kajian terhadap pemantauan dan pemeliharaan kesehatan masyarakat yang timbul di area Sungai Code berdasarkan parameter indikator mikrobiologi lingkungan.

1.5 Asumsi Penelitian

Jumlah bakteri *Total Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* dapat mengidentifikasi kualitas air Sungai Code serta dari data yang sama, keberadaan bakteri dengan jumlah tertentu dapat menjadi indikasi adanya keberadaan indikator virus (*Bacteriophage*) di suatu perairan.

1.6 Ruang Lingkup

Ruang lingkup dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret 2023.
2. Lokasi penelitian dilakukan di sepanjang aliran Sungai Code, Daerah Istimewa Yogyakarta.
3. Penentuan titik lokasi yang mengacu pada *sample survey method* dengan jumlah 7 titik.
4. Parameter biologi yang digunakan dalam pengujian yakni bakteri Total *Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Shigella*, *sp.* serta indikator virus (*Bacteriophage*) yang diuji yakni virus MS2 dan Q β .
5. Data pendukung lainnya yaitu parameter fisika (Debit, pH, Suhu, TDS, EC, ORP) dilakukan pengujian langsung di Sungai Code sedangkan parameter biologi (bakteri dan virus) diuji di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia.
6. Penentuan metoda deteksi indikator mikrobiologi lingkungan di Sungai Code menggunakan Metode *Plaque Assay*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sungai Code

Secara pengertian, pencemaran air adalah masuk atau dimasukkannya makhluk hidup, zat, energi dan/atau komponen lain ke dalam air oleh kegiatan manusia, sehingga kualitas air menurun sampai ke tingkat tertentu dan menyebabkan air tidak berfungsi sesuai dengan peruntukannya. Sumber pencemaran dapat terjadi secara alami ataupun akibat perbuatan manusia.

Sungai Code memiliki peran yang cukup penting dalam perkembangan Kota Yogyakarta dimana keberadaan Sungai Code secara historis membelah Kota Yogyakarta dan menjadi bagian barat dan timur. Selain itu, Sungai Code menjadi salah satu sungai terbesar di Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta dengan total panjang sungai yaitu 41 km. Sungai Code berada di kawasan yang cukup strategis dengan melintasi tiga kabupaten, diantaranya Sleman, Yogyakarta dan Bantul serta berdekatan dengan beberapa pusat perbelanjaan dan tempat wisata seperti Tugu, Malioboro dan Kraton yang membuat sungai tersebut berpotensi bagi pengembangan ekowisata dan sosial budaya yang menarik (Setyowati, 2021). Meningkatnya pertumbuhan penduduk dan beragamnya aktivitas serta perubahan tata guna lahan mengakibatkan permasalahan di lingkungan sekitar bantaran Sungai Code menjadi sangat kompleks dan semakin memperburuk kondisi kualitas air sungai tersebut. Status mutu air sungai di 33 provinsi pada tahun 2015 sebanyak 68% berada dalam kondisi tercemar berat dan hanya 2% yang memenuhi baku mutu (Pranowo, *et al*, 2015). Selain itu, Setyowati (2021) menyebutkan Daerah Istimewa Yogyakarta menjadi salah satu provinsi yang memiliki nilai Indeks Kualitas Air yang cukup buruk yakni sebesar 220,19 pada tahun 2017.

Umumnya, kualitas air sungai dapat terlihat dari beberapa parameter seperti temperatur, pH, DO, BOD, COD, TDS dan mikroorganisme. Penentuan kualitas air yang dipengaruhi oleh keberadaan mikroorganisme seperti bakteri, virus dan

protozoa seringkali menjadikan bakteri *Coliform* sebagai bakteri indikator. Hal tersebut tidak hanya meningkatkan pertumbuhan bakteri *Coliform* akan tetapi juga meningkatkan jumlah bakteri patogen seperti *Salmonella sp.*, *Shigella sp.* dan *Vibrio cholera*. Bakteri *E.coli* merupakan bakteri yang paling sering ditemukan dalam pencemaran air sungai. Mikroba patogen yang berkembangbiak dalam air tercemar akan menyebabkan timbulnya berbagai penyakit yang sangat banyak dan semuanya merupakan penyakit yang dapat menular dengan mudah (Anisafitri, et al, 2020a).

Berdasarkan Peraturan Pemerintah No.82 Tahun 2001 bahwa setiap orang mempunyai hak yang sama atas kualitas air yang baik. Secara umum, kualitas air sungai dibagian hulu lebih baik daripada bagian hilir. Menurut Hamrat dan Pramudyanto (2007), sumber pencemaran air berdasarkan asal pencemarannya antara lain sumber domestik (rumah tangga) seperti perkampungan, kota, pasar, jalan, dan sebagainya serta sumber non domestik (non rumah tangga) seperti pabrik industri, pertanian, peternakan, perikanan dan sumber lainnya.

Di Indonesia, kualitas air suatu perairan diatur dalam Peraturan PP No.22 Tahun 2021 dengan kriteria baku mutu yang terbagi kedalam IV (empat) kelas. Dimana klasifikasi dari 4 kelas tersebut antara lain:

- a. Kelas I: Air yang peruntukannya dapat digunakan sebagai air baku air minum.
- b. Kelas II: Air yang peruntukannya dapat digunakan untuk prasarana/sarana rekreasi air, pembudidayaan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertanian, dan untuk peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut.
- c. Kelas III: Air yang peruntukannya untuk pembudidayaan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertamanan.
- d. Kelas IV: Air yang peruntukannya lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut.

Dalam pemantauan kualitas air Sungai Code yang dilakukan DLH Kota Yogyakarta tahun 2022 mengacu pada kriteria baku mutu Kelas II. Berikut data

Kualitas Air Sungai Code Tahun 2022 Berdasarkan DLH Kota Yogyakarta Tahun 2022.

Tabel 2. 1. Data Kualitas Air Sungai Code Tahun 2022

No	Lokasi (Titik Pantau)	Suhu (°C)	TDS (mg/L)	Fecal Coliform (MPN/100 mL)	Total Coliform (MPN/100 mL)	pH
Baku Mutu PP No.22 Tahun 2021 (Kelas 2)		-	1000	1000	5000	6-9
1.	Tungkak	30,2	186	170 x 10 ⁴	540 x 10 ⁴	6,67
2.	Wirosaban	29,2	161	430 x 10 ⁴	430 x 10 ⁴	6,63
3.	Tungkak	30,2	155	430 x 10 ⁴	430 x 10 ⁴	6,41
4.	Wirosaban	30,2	448,5	33 x 10 ⁴	33 x 10 ⁴	6,93
5.	Petinggen	28,2	354	68 x 10 ³	49 x 10 ⁴	6,66

Sumber: DLH Kota Yogyakarta (jogjakota.go.id)

2.2 Virus

Virus memiliki bentuk yang bervariasi baik dari segi ukuran, bentuk dan komposisi kimiawinya. Selain itu, struktur virus lebih kecil dari bakteri. Dari segi bentuk, terdapat virus yang berbentuk bulat, oval, memanjang, silindaris, dan berbentuk T. Sedangkan dari segi ukuran, virus hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop elektron karena ukurannya yang sangat kecil. Ukuran virus terkecil berdiameter sekitar 20 nm dan yang terbesar sekitar 300 nm. Aplikasi penggunaan virus dapat bersifat menguntungkan maupun merugikan. Virus yang menguntungkan yaitu virus yang dapat berperan penting dalam bidang rekayasa genetika karena dapat digunakan untuk *cloning* gen (reproduksi DNA secara genetis identik) serta sebagai terapi gen manusia sehingga diharapkan dapat menyembuhkan penyakit-penyakit genetis seperti diabetes dan kanker. Sedangkan virus merugikan yaitu virus yang menyebabkan berbagai jenis penyakit pada manusia, hewan dan tumbuhan.

Terdapat beberapa klasifikasi virus yang dikelompokkan berdasarkan karakteristik fenotipe virus tersebut seperti morfologi, jenis asam nukleat, cara replikasi, organisme inang, serta jenis penyakit yang ditimbulkan. Beberapa klasifikasi virus antara lain:

a) Berdasarkan jenis inang

Untuk bertahan hidup, virus memerlukan organisme lain sebagai inangnya karena virus tidak digolongkan ke dalam sel. Hal tersebut karena virus dapat dikristalkan dan tidak memiliki protoplasma. Adapun pengelompokkan virus berdasarkan jenis inang yaitu:

1. Bakteri: Virus yang menyerang bakteri seperti virus T
2. Tanaman: Virus yang menyerang tanaman seperti *Tobacco mosaic virus* (TMV)
3. Hewan: Virus yang menyerang hewan seperti virus Rabies dan Flu burung
4. Manusia: Virus yang menyerang manusia seperti virus Polio, HIV, dan COVID-19

b) Berdasarkan ada/tidaknya selubung nukleokapsid

Nukleokapsid merupakan protein yang menyelubungi virus. Kapsid ini berfungsi untuk melindungi virus ketika berada di luar inang. Berdasarkan nukleokapsid, virus dikelompokkan menjadi 2 yaitu:

1. Virus terselubung: Virus yang memiliki selubung yang terdiri dari lipoprotein dan glikoprotein seperti virus *Poxyvirus* dan *Herpesvirus*
2. Virus telanjang: Virus yang tidak memiliki selubung pada nukleokapsidnya seperti *Adenovirus*, *Picornavirus* dan *Reorvirus*

c) Berdasarkan jumlah kapsomer

Kapsomer adalah satuan unit protein yang menyusun kapsid pada virus, beberapa kelompok virus dengan jumlah kapsomernya antara lain:

1. 32 kapsomer seperti *Parvovirus*
2. 60 kapsomer seperti *Picornavirus*
3. 72 kapsomer seperti *Papovirus*
4. 162 kapsomer seperti *Herpesvirus*

5. 252 kapsomer seperti *Adenovirus*

d) Berdasarkan genom dan metode replikasi

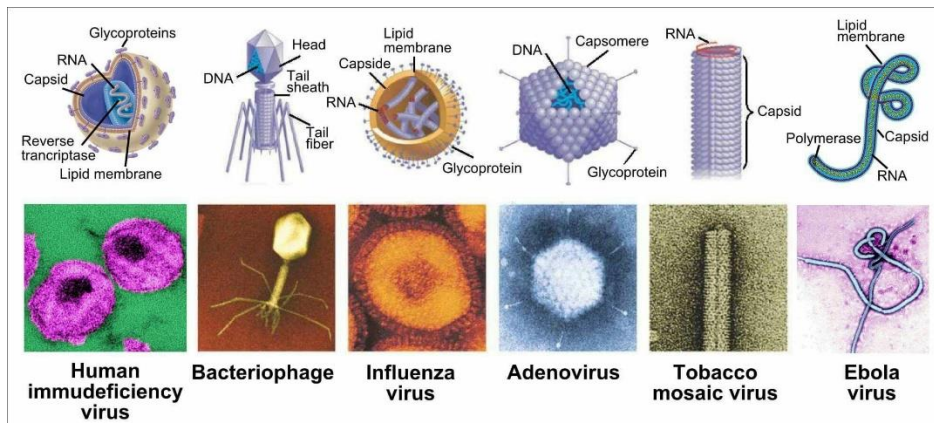
Genom merupakan informasi genetik dari suatu sel organisme. Dimana informasi tersebut terkandung dalam DNA. Klasifikasi virus berdasarkan genom pertama kali diajukan oleh David Baltimore dan membaginya menjadi 7 (tujuh) kategori, yaitu:

1. Virus tipe I: Virus yang memiliki DNA utas ganda dan reproduksinya dengan cara replikasi seperti *Herpesvirus*
2. Virus tipe II: Virus yang memiliki DNA utas tunggal dan reproduksinya dengan cara replikasi seperti virus MVM (*Minute virus of mice*)
3. Virus tipe III: Virus dengan RNA utas ganda dan reproduksinya secara replikasi seperti *Reovirus*
4. Virus tipe IV: Virus dengan RNA utas tunggal (+) dan reproduksinya secara replikasi seperti virus Polio
5. Virus tipe V: Virus dengan RNA utas tunggal (-) dan reproduksinya secara replikasi seperti virus Rabies
6. Virus tipe VI: Virus yang memiliki RNA utas tunggal (+) dengan DNA perantara dan reproduksinya secara transkripsi balik seperti virus AIDS
7. Virus tipe VII: Virus yang memiliki RNA utas ganda dengan RNA perantara dan reproduksinya secara transkripsi balik seperti *Heparnavirus*

e) Berdasarkan asam nukleat

Berdasarkan asam nukleat, virus terbagi menjadi 2 (dua) jenis yaitu:

1. Virus DNA: Virus yang asam nukleatnya berupa DNA seperti *Parvovirus*
2. Virus RNA: Virus yang asam nukleatnya berupa RNA seperti *Picornavirus*



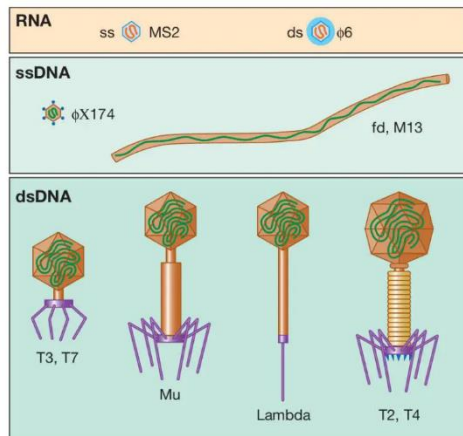
Gambar 2. 1. Klasifikasi Virus

Sumber: (microjeganes.blogspot.com)

2.3 Bacteriophage

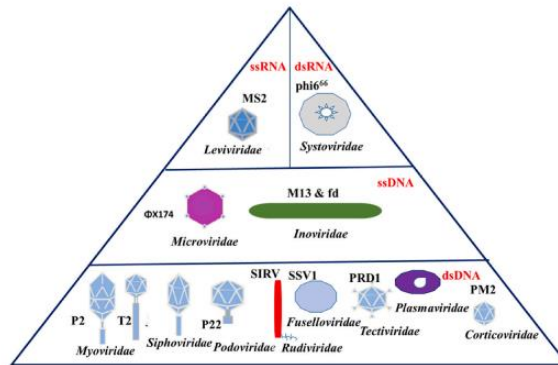
Secara umum, virus memiliki struktur yang relatif sederhana dimana terdiri dari asam nukleat yakni asam deoksiribonukleat (DNA) atau asam ribonukleat (RNA) yang dikelilingi oleh *protective protein coat* atau *capsid* (Mara & Horan, 2003). *Bacteriophage* atau *phage* adalah virus khusus yang menginfeksi bakteri (Jofre *et al.*, 2016). Kehadiran virus dapat disebabkan karena adanya aktivitas manusia, industri maupun pertanian dan tersebar luas di seluruh dunia (Fongaro *et al.*, 2015). Oleh karena itu, *bacteriophage* dapat ditemukan di lingkungan seperti tanah, tanaman, sungai dan bahkan sebagai mikrobioma manusia.

Sama seperti virus lainnya, untuk bereproduksi *bacteriophage* harus menginfeksi sel inangnya. Struktur *bacteriophage* memiliki bentuk menyerupai huruf T yang terdiri dari kepala, leher dan ekor. Pada bagian kepala, terdapat asam nukleat DNA atau RNA dan kapsid berupa protein. Bagian leher berfungsi untuk menjadi penyangga dan transmisi DNA dari kepala ke bagian ekor. Sedangkan pada bagian ekor berfungsi untuk menginjeksikan DNA ke sel yang menjadi inang *bacteriophage*. *Bacteriophage* memiliki peran dalam transfer materi genetik dari satu bakteri ke bakteri lainnya serta berkontribusi dalam melawan infeksi bakteri terutama yang kebal antibiotik.



Gambar 2. 2. Representasi skematis dari jenis utama *phage*
 Sumber: [Microbe Online](#)

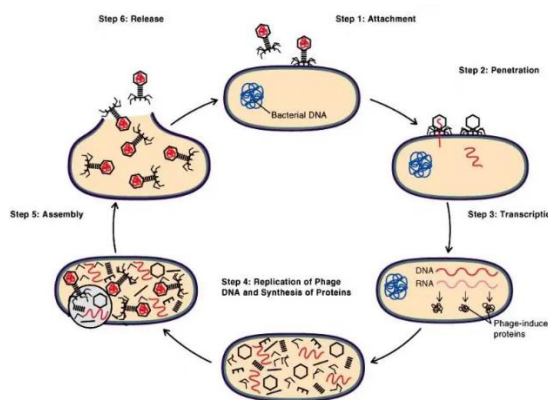
Jenis *bacteriophage* tertentu seperti fag *Enterococcus sp.*, *Coliform* dan *Escherichia coli* merupakan jenis bakteri yang sering digunakan untuk memantau kualitas perairan (Rodríguez *et al.*, 2012). Fag litik merupakan metode alami untuk menghilangkan atau mengontrol pertumbuhan bakteri patogen manusia. Dimana, bakteri *Escherichia.coli* merupakan salah satu bakteri yang dapat dilisis oleh fag litik (Iswadi, 2018). Dalam klasifikasi virus terdapat virus yang hanya memiliki materi genetik DNA dan terdapat pula virus yang hanya memiliki materi genetik RNA saja. Perbedaan mendasar antara virus DNA dan RNA yaitu tipe asam nukleat yang terletak pada basa nitrogen penyusun dan strukturnya. Virus DNA memiliki basa nitrogen berupa Timin (T), Adenin (A), Sitosin (C), Guanin (G). Sedangkan virus RNA memiliki basa nitrogen berupa Adenin (A), Urasil (A), Guanin (G) dan Sitosin (S). Perbedaan lainnya yaitu virus DNA memiliki genom yang lebih besar dari RNA. Virus yang merupakan *bacteriophage* F-RNA diklasifikasikan secara genetik menjadi empat sub tipe yaitu GII dan GIII yang berkaitan dengan manusia serta GI dan GIV yang berkaitan dengan hewan (Setiyawan *et al.*, 2014). *Bacteriophage* diklasifikasikan berdasarkan struktur genomnya menjadi DNA untai ganda (dsDNA), DNA untai tunggal (ssDNA), dsRNA dan ssRNA (Hossain, *et al.*, 2020).



Gambar 2. 3. Klasifikasi *Bacteriophage*

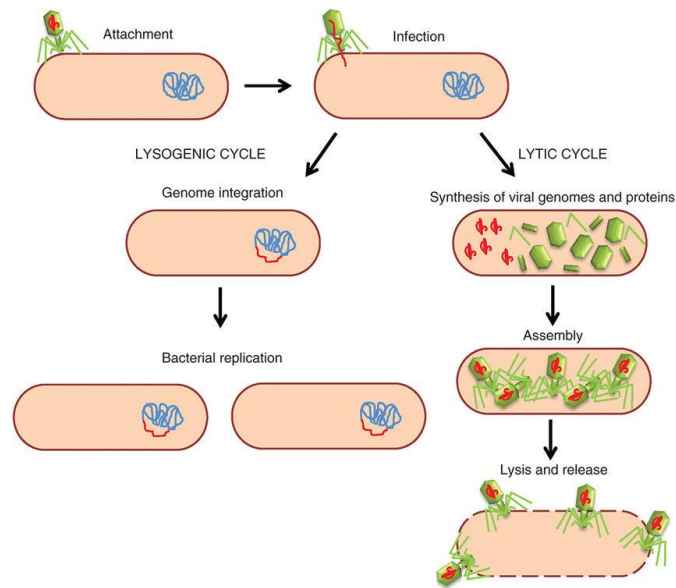
Sumber: (Hussain *et al.*, 2021b)

Dalam melakukan replikasi *phage*, terdapat 2 (dua) siklus yakni Siklus Lisis atau *Virulent cycle* dan Siklus Lisogenik atau *Temperate cycle*. Dalam siklus lisis, *bacteriophage* menginfeksi bakteri dan membunuhnya untuk melepaskan virus keturunan. Siklus lisis berlangsung dalam beberapa tahap yaitu adsorpsi, penetrasi, sintesis dari komponen fag, pematangan dan perakitan, dan *release*. Dimana sel bakteri yang terinfeksi dilisis melepaskan progeni. Dinding sel bakteri kemudian dilemahkan oleh enzim selama proses replikasi. Sedangkan siklus Lisogenik memiliki sedikit perbedaan dengan siklus Lisis yaitu ketika sudah mencapai tahap penetrasi, DNA virus tidak mengalami replikasi dan sintesis protein tetapi bergabung dengan DNA bakteri sehingga antara DNA virus dan DNA bakteri menjadi satu.



Gambar 2. 4. Siklus Lisis *Bacteriophage*

Sumber: [Microbe Online](#)



Gambar 2. 5. Siklus Lisogenik

Sumber: Jurnal (Domingo-Calap, Georgel dan Bahram, 2016)

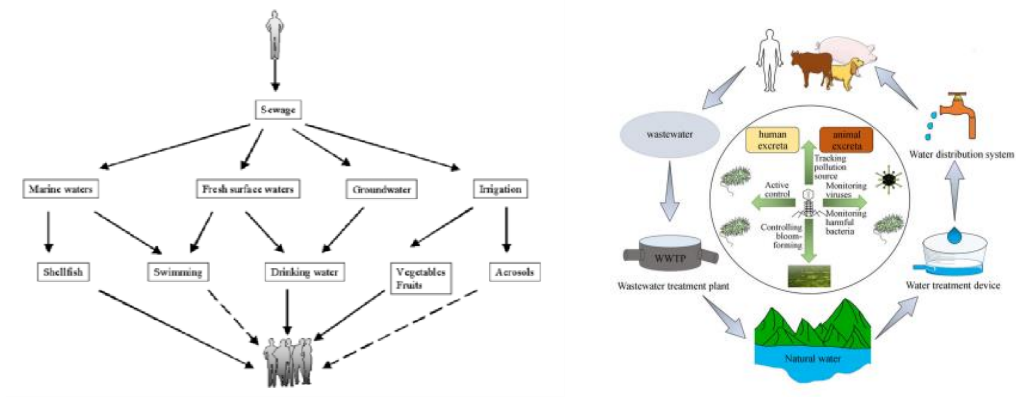
Tabel 2. 2. Taksonomi, morfologi dan molekular karakteristik dari grup *Bacteriophage*

Family	Genus	Nucleic acid	Morfologi	Host utama
<i>Leviridae</i>	<i>Levirivirus</i>	ssRNA	<i>Icosahedral</i>	<i>E. coli</i>
<i>Cystoviridae</i>	<i>Cystovirus</i>	dsRNA	<i>Icosahedral</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>
<i>Microviridae</i>	<i>Phix174microvirus</i>	ssDNA	<i>Icosahedral</i>	<i>E. coli</i>
<i>Inoviridae</i>	<i>Fibrovirus</i>	ssDNA	<i>Filamentous or rod</i>	<i>Vibrio sp</i>
<i>Podoviridae</i>	<i>P22virus</i>	dsDNA	<i>Tailed</i>	<i>S. typhimurium</i>
<i>Plasmaviridae</i>	<i>Plasmavirus</i>	dsDNA	<i>Spherical to pleomorphic</i>	<i>Mycoplasma sp.</i>

Sumber: (Rogovski *et al.*, 2021a)

Sebagai virus-bakteri, *bacteriophage* adalah organisme yang paling banyak ditemukan di bumi (Ji *et al.*, 2021). Diperkirakan jumlah *bacteriophage* di

bumi adalah $\geq 10^{31}$. Karena kapasitas mereka secara khusus menginfeksi inang bakteri, maka penggunaan *bacteriophage* saat ini mulai digunakan sebagai alat baru dalam pengendalian pencemaran air terutama dalam memantau kualitas air dan pengolahan air limbah (Ji *et al.*, 2021). Saat ini, agen antibakteri masih banyak digunakan di banyak daerah untuk menghilangkan beberapa mikroorganisme dalam air limbah. *Bacteriophage* dapat berada di lingkungan alami maupun buatan. Di lingkungan alami, *bacteriophage* memiliki kemampuan untuk mereplikasi diri dalam inangnya, sehingga berdampak pada keragaman bakteri. Di dalam tubuh manusia, *bacteriophage* berfungsi untuk melindungi dari bakteri patogen. Di perairan laut, diketahui terkandung sebanyak 4×10^{30} virus. Dalam lingkungan buatan, kemampuan memediasi pertumbuhan bakteri dapat dimanfaatkan untuk berbagai kegunaan, karena spesifitas dan seberapa mudah mereka dapat dimodifikasi secara genetik. Dalam pengolahan air limbah, dapat digunakan untuk mempengaruhi komunitas bakteri yang ada, sehingga dapat meningkatkan efisiensi proses tersebut (Batinovic *et al.*, 2019). Pemanfaatan *bacteriophage* penting untuk melacak sumber limbah kotoran seperti limbah yang dihasilkan dari kotoran tinja manusia. Beberapa mikroorganisme indikator tidak dapat memberikan informasi yang akurat tentang sumber polusi seperti indikator bakteri *Bacteroides* HF183 kekurangan spesifitas inang serta terdapat konsentrasi virus yang rendah seperti *Adenovirus* manusia dan *Poliomavirus* manusia memiliki sensitivitas yang tidak memadai. Oleh karena itu, *microbial source tracking* (MST) dapat dijadikan sebagai pilihan alternatif. Dengan begitu, penilaian risiko dan menentukan strategi manajemen dapat dilakukan secara akurat (Ji *et al.*, 2021). Dalam studi terbaru, *phage* telah menunjukkan spesifitas dan sensitivitas yang lebih tinggi. Saat ini terdapat tiga indikator *human-specific* MST diantaranya yaitu F-RNAPH sejenis virus RNA yang menyerupai *Norovirus* dan virus *Hepatitis A*, selanjutnya yang menginfeksi *Bacteroides* tertentu dan jenis ketiga adalah *Enterococcus* yang telah berhasil digunakan di banyak daerah untuk melacak sumber polusi.



Gambar 2.6. Skema penularan infeksi virus melalui air

Sumber: Jurnal (Bosch *et al.*, 2006 dan Ji *et al.*, 2021)

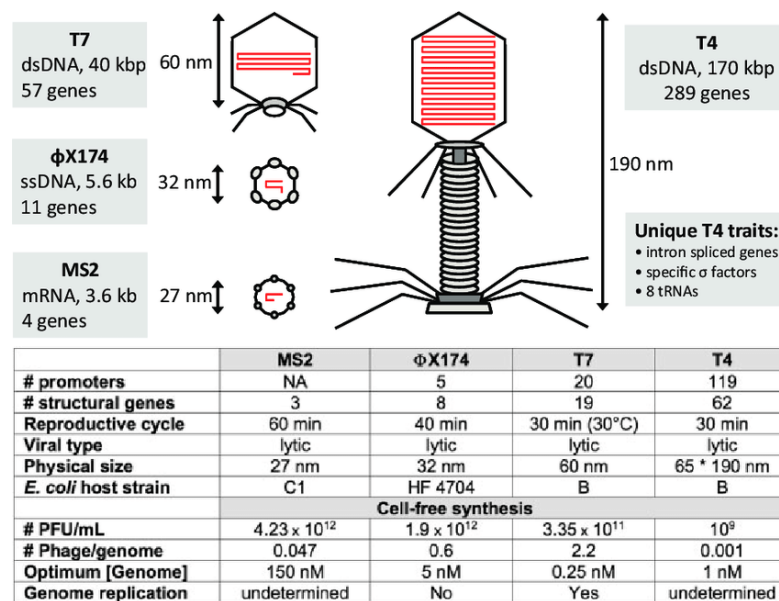
Tabel 2. 3. *Phage* yang sering digunakan untuk mengevaluasi kualitas air

Phages	Monitoring water quality	Tracking human faecal sources
Coliphages	Somatic coliphages (e.g. phages of <i>E. coli</i> strain WG5)	
	F-RNA coliphages (geno-groups I is more accurate.)	F-RNA coliphages (geno-groups II and III)
<i>Bacteroides</i> phages	<i>B. fragilis</i> (e.g. RYC2056, GB124) phages	<i>B. fragilis</i> (e.g. GB124, and HSP40) phages
	<i>B. thetaiotaomicron</i> (e.g. GA-17 and ARABA 84) phages	<i>B. thetaiotaomicron</i> (e.g. GA-17 and ARABA 84) phages
	CrAssphage	CrAssphage
<i>Enterococcus</i> phages	Phages of <i>Bacteroides</i> HB-73	Phages of <i>Bacteroides</i> HB-73
	<i>E. faecalis</i> (e.g. AIM06 and SR14) phages	<i>E. faecalis</i> (e.g. AIM06 and SR14) phages
	<i>E. faecium</i> (e.g. ENT-49 and ENT-55) phages	<i>E. faecium</i> (e.g. MW47) phages

2.2.1 Bacteriophage MS2

Bacteriophage MS2 adalah anggota famili *Leviviridae*. *Bacteriophage MS2* merupakan virus yang menginfeksi “male” *Eschericia coli*. Secara morfologi, *bacteriophage MS2* adalah virus ikosahedral yang tidak berselubung. Virus *MS2* umumnya tahan terhadap disinfektan kimia dan juga mampu menahan tekanan lingkungan seperti perubahan suhu, pengeringan dan tekanan osmotik. Virus *MS2* memiliki diameter 23-28 nm membuatnya masuk dalam kategori virus kecil tidak berselubung seperti *canine parvovirus* dan *human poliovirus*. Beberapa literatur menunjukkan bahwa virus *MS2* lebih sensitif terhadap berbagai metode desinfeksi, termasuk paparan sinar UVC dan senyawa amonium kuaterner.

Penggunaan virus *MS2* secara khusus sebagai perwakilan virus saat ini sudah diakui oleh *Environmental Protection Agency* (EPA). Virus *MS2* dapat digunakan dalam pengelolaan air limbah dan sebagai virus indikator. Virus *MS2* juga digunakan sebagai penanda kuantitatif untuk efektivitas agen antivirus dan antiseptik, serta efisiensi instalasi pengolahan air dan perangkat filtrasi (Kuzmanovic *et al.*, 2003). Selain itu, virus ini juga termasuk bagian dari *bacteriophage Q β* , *f2*, *GA*, dan *R17*. Saat ini, virus *MS2* sudah banyak diaplikasikan sebagai kontrol proses untuk tes virus yang berbeda. Virus *MS2* dilindungi dari *RNAses*, mudah ditangani dengan teknik biologi molekuler dasar, dan bersifat non-patogen bagi manusia.



Gambar 2. 7. Struktur *Bacteriophage*

2.2.2 *Bacteriophage Q β*

Bacteriophage Q β adalah salah satu virus terkecil yang berukuran diameter 24 nm. Virus *Q β* merupakan virus RNA yang paling sering dipelajari lebih lanjut. Virus *Q β* mampu menginfeksi bakteri gram negatif *Escherichia coli* tetapi hanya menargetkan *male E.coli* (Skov R & Rohde K, 2022). Virus *Q β* bereplikasi dengan tingkat mutasi yang sangat tinggi dan membentuk populasi yang sangat beragam serta berlangsung dengan cepat (Lázaro *et al.*, 2018).

2.3 Indikator Mikroorganisme

Air merupakan pelarut yang universal yang dapat mengandung zat-zat terlarut, sebagaimana juga dengan mikroorganisme. Indikator mikroorganisme yang digunakan dalam analisis air mengacu pada jenis mikroorganisme yang kehadirannya dalam air dapat mengindikasikan adanya pencemaran oleh tinja dan berpeluang bagi organisme patogen untuk masuk kedalam air tersebut. Beberapa ciri penting indikator mikroorganisme menurut Alaerts (1987) antara lain:

- a. Terdapat dalam air tercemar dan tidak terdapat dalam air yang tidak tercemar
- b. Jumlah mikroorganisme indikator berkorelasi dengan kehadiran bakteri patogen
- c. Mempunyai kemampuan hidup yang lebih lama daripada bakteri patogen
- d. Mempunyai sifat yang mantap dan seragam
- e. Tidak berbahaya bagi manusia dan hewan
- f. Terdapat dalam jumlah yang lebih besar daripada bakteri patogen sehingga mudah terdeteksi
- g. Mudah terdeteksi dengan teknik-teknik laboratorium yang sederhana

Pengujian dengan menggunakan indikator mikroorganisme merupakan tes yang paling umum dilakukan serta dapat dilaksanakan secara rutin. Umumnya, indikator mikroorganisme yang paling sering dilakukan pengujian yakni bakteri *Total Coliform* dan *E.coli*. Hanya saja, pengujian bakteri total dapat memberikan hasil yang kurang spesifik karena memungkinkan bakteri yang teranalisa bukan hanya berasal dari bakteri tinja melainkan juga dari bakteri-bakteri tanah, tanaman dan sebagainya.

2.3.1 Total Coliform

Total *coliform* merupakan kelompok bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya polusi kotoran (Pakpahan, *et al*, 2020). Total *coliform* terbagi menjadi dua yaitu *fecal coliform* yang berasal dari tinja seperti *E.coli* dan *non-fecal coliform* yang bukan berasal dari tinja seperti *Aerobacter*. Penelitian yang dilakukan Anisafitri, *et al*, (2020b) terhadap bakteri *coliform* pada air Sungai

Unus, Lombok sebesar ≥ 16.000 MPN/100ml dan telah melebihi baku mutu air permukaan kelas II-IV. Tingginya jumlah konsentrasi total *coliform* di perairan dapat menimbulkan berbagai penyakit yang mudah menular.

2.3.2 Bakteri *Escherichia coli/E.coli*

Bakteri *E.coli* merupakan salah satu bakteri yang tergolong *coliform* dan hidup secara normal di dalam kotoran manusia maupun hewan sehingga bakteri ini juga dikenal dengan sebutan *fecal coliform*. Bakteri *E.coli* memiliki sifat yakni dapat memfermentasi laktosa dan memproduksi asam dan gas pada rentang suhu 37°C maupun suhu $44.5+0.5^{\circ}\text{C}$ dalam waktu 48 jam. Pencemaran bakteri *E. coli* dapat dipengaruhi oleh zat yang terdapat di *feses* manusia maupun hewan yang dibuang ke sungai. Di sebagian besar rumah yang ada di sekitaran aliran Sungai Code memiliki *septic tank* yang jaraknya dengan sumber air kurang dari jarak yang dianjurkan sehingga menjadi penyebab utama terjadinya pencemaran. Air yang tercemar tinja dapat menampung berbagai macam virus yang berasal dari saluran gastroistinal manusia (IAWPRC., 1991). Adapun *bacteriophage* yang menginfeksi *E.coli* biasanya terdeteksi dalam kotoran manusia, sapi, babi, ayam dan hewan lainnya.

2.3.3 Bakteri *Salmonella Typhimurium*

Salmonella typhimurium atau *Salmonella enterica seroval Typhimurium* adalah bakteri jenis *bacillus* dan merupakan bakteri Gram Negatif. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit *salmonellosis* pada manusia dan hewan. Bakteri *Salmonella typhimurium* memiliki plasmid DNA yang dapat bersifat patogen. Umumnya, bakteri *Salmonella, sp.* dapat bertahan hidup di daerah yang terkontaminasi kotoran hewan seperti sapi, tikus, dan sebagainya. Suhu optimal berada diantara $35-43^{\circ}\text{C}$. Berbeda dengan bakteri *E.coli*, bakteri *Salmonella typhimurium* termasuk bakteri yang tidak memfermentasi laktosa.

Sumber utama transmisi bakteri *Salmonella,sp.* pada manusia yakni air dan makanan terkontaminasi seperti daging mentah dan unggas dimana persentase kasus akibat mengkonsumsi produk daging, telur dan daging unggas yang tidak

masak atau di ditangani dengan baik sebesar 40% (Husna *et al.*, 2019). Kasus yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella, sp.* biasanya terjadi jika manusia menelan pangan yang terkontaminasi bakteri *Salmonella, sp.* dengan jumlah yang signifikan terutama bakteri *Salmonella typhimurium* dan *Salmonella enteritidis* (Husna *et al.*, 2019). Strain *Salmonella typhimurium* (tipe 3) banyak digunakan dalam pemanfaatan *bacteriophage* karena strain dari bakteri ini (dengan lipopolisakarida lengkap) secara konsisten menghasilkan jumlah plak rendah (<10 PFU/mL) dari fag bahkan ketika memeriksa *raw sewage* (IAWPRC., (1991).

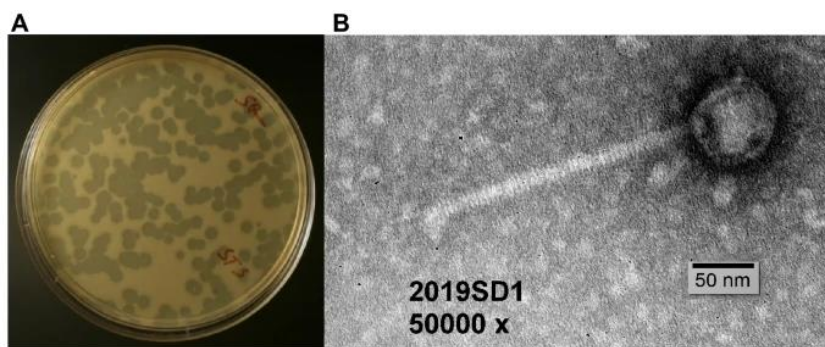
2.3.4 Bakteri *Shigella, sp.*

Bakteri *Shigella, sp.* merupakan bakteri patogen yang paling umum dan mematikan di dunia (Mai *et al.*, 2015). Menurut penelitian yang dilakukan *Global Burden of Disease* tahun 1990-2016, *Shigella, sp.* menjadi penyebab utama kedua kematian karena diare pada tahun 2016 dengan persentase 13.2% (Kumar, *et al.*, 2021). Bakteri *Shigella, sp.* memiliki kemampuan untuk menyebabkan epidemi disentri pada populasi yang besar sebagaimana telah banyak laporan terkait kasus tersebut di negara-negara seperti Asia dan Afrika (Kumar, 2021).

Bakteri *Shigella, sp.* adalah bakteri yang masuk kedalam famili *Enterobacteriaceae* yang menunjukkan karakteristik yang sangat mirip dengan *E.coli* dan termasuk bakteri Gram Negatif yang berbentuk batang fakultatif. Bakteri ini memiliki beberapa genus antara lain *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri* dan *Shigella sonnei*. *Shigella flexneri* adalah yang paling umum ditemukan yakni sebanyak 58 spesies terdapat di negara berkembang, sementara *Shigella sonnei* merupakan penyebab utama *shigellosis* di 59 negara maju seperti Amerika Serikat (Yan Teh *et al.*, 2020). Dimana tingginya bakteri tersebut dikarenakan pembuangan limbah yang tidak memadai dan kurangnya pasokan air yang diolah secara efektif (Hamidullah, 2019). *Bacteriophage Sf6* merupakan *Shigella-specific* yang menginfeksi *serotype X* dan *Y* pada bakteri *Shigella, sp.*

Saat ini, sebagian besar penelitian berfokus pada fag *E.coli* dan *Salmonella, sp.* sehingga perhatian yang relatif kurang diberikan pada bakteri *Shigella, sp.*

terlepas dari hasil data yang menyebutkan bahwa *shigellosis* adalah masalah kesehatan global utama yang menyebabkan jutaan infeksi setiap tahun (Kumar, *et al.*, 2021). Bakteri *Shigella, sp.* termasuk *E.coli* dan *Salmonella, sp.* merupakan mikroba yang paling seringkali ditemukan di dalam makanan yang terkontaminasi. Suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri *Shigella, sp.* adalah 37°C dalam media yang mengandung 1% pepton sebagai sumber karbon dan nitrogen (Percival & Williams, 2013).



Gambar 2.8. Plak terhadap *Shigella dysenteriae* tipe 1 dengan *double agar plating assay*

2.4 Metode *Plaque Assay*

Terdapat beberapa metode yang dapat digunakan dalam melakukan pengujian terhadap virus lingkungan (*bacteriophage*). Metode konsentrasi yang baik harus memenuhi beberapa kriteria antara lain harus sederhana secara teknis, cepat dan memberikan pemulihan virus yang tinggi, serta memadai untuk berbagai virus lingkungan. Terdapat beberapa cara dalam melakukan pengujian terhadap *bacteriophage* diantaranya *conventional*, *membran-based*, *advanced oxidation* dan *hybridization* (Ibrahim *et al.*, 2021).

Metode yang paling umum dan banyak digunakan dalam melakukan ekstraksi dan kuantifikasi DNA/RNA virus lingkungan antara lain yaitu dengan menggunakan metode kultur sel dan metode PCR. Faktor terpenting dalam mendefinisikan suatu metode untuk mendeteksi kelompok *bacteriophage* tertentu adalah strain inang bakteri (Jofre *et al.*, 2016). *Bacteriophage* dapat dihitung langsung dengan kuantitatif *Plaque Assay*. Uji plak memberikan hasil dalam

plaque-forming unit (PFU). Dalam standar ISO, PFU juga dikenal sebagai *plaque-forming particles* (PFPs) (Jofre *et al.*, 2016).

Metode Uji *Plaque Assay* merupakan metode yang paling umum digunakan untuk mengetahui adanya *enterovirus* menular di lingkungan. Metode ini masih dianggap sebagai metode terbaik untuk mengisolasi dan menentukan infektivitas virus dari sampel lingkungan (Fong & Lipp, 2005). Namun, terdapat kelemahan pada metode ini yakni dalam uji kultur sel membutuhkan waktu yang relatif lama karena membutuhkan inkubasi hingga berminggu-minggu, serta terdapat banyak virus yang tidak dapat dideteksi karena tidak menghasilkan CPE dan pertumbuhan yang lambat.

2.5 Penelitian Terdahulu

Pada penelitian terdahulu, data yang dimuat akan dijadikan sebagai acuan dan perbandingan dalam melakukan analisis terhadap hasil dari data penelitian ini.

Tabel 2. 4. Tinjauan Penelitian Terdahulu

Penulis	Parameter Biologi	Hasil Penelitian
Eiji Haramoto, <i>et al.</i>	Indikator mikroorganisme, virus dan protozoa	Hubungan antara patogen dan indikator mikroorganisme diperoleh bahwa deteksi <i>E.coli</i> adalah metode yang paling cocok untuk memprediksi keberadaan patogen dalam sumber air minum Jepang di antara tiga mikroorganisme indikator yang diuji.
MacMinn B.R., <i>et al</i>	<i>E.coli</i> dan <i>Bacteriophage Qβ</i>	Bakteriofag <i>Qβ</i> ditemukan bereplikasi dalam dua dari tiga sistem infeksi <i>cell-free</i> yang diuji.
Ana Costan-Longares, <i>et al.</i>	<i>Total coliforms</i> (TC), <i>E. Coli</i> (EC), <i>enterococci</i> (FE), <i>spores of sulphitereducing clostridia</i> (SRC), <i>somatic coliphages</i> (SOMCPH), <i>RNAF-specific phages</i> (FRNAPH), <i>B. Fragilis</i> strain RYC2056 (BFRYCPH), phages that infect <i>B. Tethaioaomicron</i> strain GA-17 (BTGA17PH), <i>Cytopathogenic enteroviruses</i> (EV) and viable <i>Cryptosporidiumoocysts</i> (CRYP)	Terdapat korelasi yang signifikan antara indikator mikroba dan <i>enterovirus</i> namun tidak dengan indikator mikroba dan <i>Cryptosporidiumoocysts</i> .

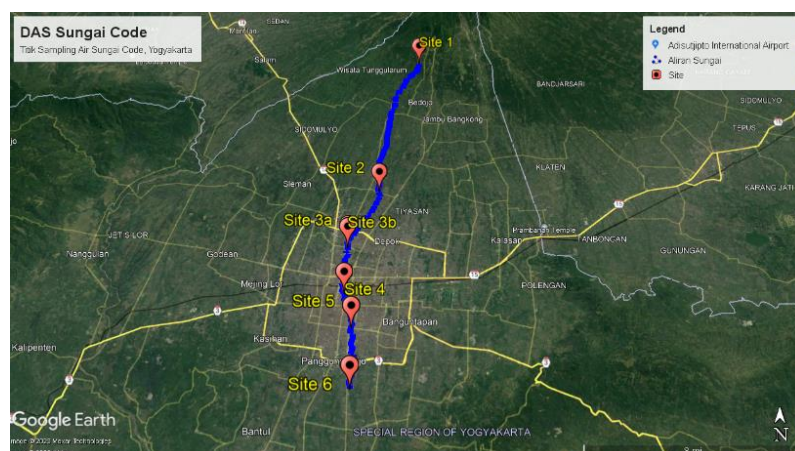
BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Maret 2023. Penelitian dilaksanakan di aliran Sungai Code, Daerah Istimewa Yogyakarta untuk pengambilan sampel air sungai dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia sebagai tempat pengujian sampel. Penelitian diawali dengan melakukan preparasi alat dan bahan serta melakukan pengujian terhadap bakteriofag *MS2* dan *Q β* di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia.

Proses pengambilan sampel air sungai dalam penelitian ini dilakukan sebanyak dua kali pada tanggal 08 Juli 2023 dan 30 Juli 2023. Penentuan titik lokasi pengambilan sampel berdasarkan *sample survey method*, yaitu suatu metode pengambilan sampel dengan cara membagi daerah penelitian menjadi beberapa *site* atau titik sebagai perwakilan kondisi air sungai terhadap jumlah keberadaan bakteri Total *Coliform Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* Jumlah titik sampel yang diambil berjumlah 7 titik yang tersebar di beberapa lokasi aliran Sungai Code. Berikut penentuan titik pengambilan sampel air sungai di Sungai Code dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1. Peta Titik Sampling Penelitian

Adapun uraian penjelasan dari Gambar 3.1 diatas adalah sebagai berikut.

a. Titik Sampling *Site 1* (Hulu)

Pengambilan sampel air sungai *Site 1* dilakukan di Jembatan Perak yang terletak di Jl. Kemiri, Purwobinangun, Kecamatan Pakem, Kabupaten Sleman dengan Garis Lintang $7^{\circ}36'58.15''S$ dan $110^{\circ}24'57.37''T$. Jembatan Perak dipilih sebagai lokasi bagian hulu pada penelitian ini. Kawasan ini memiliki lahan yang hijau dan ekologi alamnya masih dalam kondisi baik karena letaknya yang berada di dekat Gunung Merapi.



Gambar 3.2. Sampling air sungai di Jembatan Perak

b. Titik Sampling *Site 2*

Pengambilan sampel air sungai *Site 2* dilakukan di Jembatan Kamdamen yang terletak di Jl. Kapten Haryadi, Ngentak, Sinduharjo, Kecamatan Ngaglik, Kabupaten Sleman dengan Garis Lintang $7^{\circ}43'21.61''S$ dan $110^{\circ}23'21.50''T$. Jembatan Kamdamen memiliki kondisi lingkungan yang berada di daerah pemukiman dan pertanian.



Gambar 3.3. Sampling air sungai di Jembatan Kamdamen

c. Titik Sampling *Site 3a* dan *Site 3b*

Jembatan Pogung atau Jembatan Baru UGM sebagai titik sampling *Site 3* terletak di Gg. Code I, Gemawang, Siduandi, Kecamatan Mlati, Kabupaten Sleman dengan Garis Lintang $7^{\circ}45'41.42''S$ dan $110^{\circ}22'13.66''T$. Pada jembatan ini terdapat dua titik lokasi pengambilan sampel yakni *Site 3a* dan *Site 3b*. Adapun kondisi lingkungan disekitarnya terdapat pemukiman warga, ruko/toko, serta gedung rusunawa yang berada tepat di sebelah Jembatan Pogung.



Gambar 3.4. Sampling air sungai di Jembatan Pogung

d. Titik Sampling *Site 4*

Pengambilan sampel air sungai *Site 4* ini dilakukan di Jembatan Jambu yang terletak di Kali Code, Suryatmajan, Danurejan, Kota Yogyakarta dengan Garis Lintang $7^{\circ}47'38.55''S$ dan $110^{\circ}22'10.69''T$. Jembatan Jambu yang berada di kota ini didominasi oleh pemukiman warga, ruko/toko, hotel serta pusat perbelanjaan.



Gambar 3.5. Sampling air sungai di Jembatan Jambu

e. Titik Sampling *Site 5*

Pengambilan sampel air sungai *Site 5* dilakukan di Jembatan Tungkak yang terletak di Jl. Kolonel Sugiyono 75, Kecamatan Mergangsan, Kota Yogyakarta dengan Garis Lintang $7^{\circ}48'56.85''\text{S}$ dan $110^{\circ}22'29.04''\text{T}$. Daerah Jembatan Tungkak ini didominasi oleh pemukiman warga, ruko/toko dan berbagai jenis industri.



Gambar 3.6. Sampel air sungai di Jembatan Tungkak

f. Jembatan Imogiri Barat (Hilir)

Pengambilan sampel air sungai *Site 6* dilakukan di Jembatan Imogiri Barat yang terletak di Jl. Imogiri Barat, Glagah Kidul, Tamanan, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul dengan Garis Lintang $7^{\circ}51'5.74''\text{S}$ dan $110^{\circ}22'31.23''\text{T}$. Jembatan Imogiri Barat dipilih sebagai lokasi bagian hilir pada penelitian ini yang menampung beban pencemar dari keseluruhan *site* yang ada.



Gambar 3.7. Sampel air sungai di Jembatan Imogiri Barat

3.2 Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini alat dan bahan yang digunakan untuk pengujian sampel adalah sebagai berikut:

- a. Peralatan untuk sampling air sungai, antara lain yaitu botol plastik untuk sampel, *Coolbox*, *Ice pack*, *Water Quality Tester* (OC, ORP, TDS), Ember, Gayung, Meteran, *Aquadest*, pH meter, DO meter, *Current meter*.
- b. Peralatan untuk pengujian Laboratorium, antara lain yaitu tabung reaksi, Erlenmeyer, Pipet *volume*, Gelas ukur, *Petri Dish*, LAF, *Water bath*, Api bunsen, Inkubator, Gelas beaker, *Stirrer bar*, *Magnetic stir plate*, *Vortex mixer*, Timbangan digital, Sendok sugu, *Micropipette test tube* ukuran 10-200 μL , 100-1000 μL , *Sterile dilution tubes* ukuran 5 mL – 15 mL, *Autoclave*.
- c. Bahan untuk pengujian Laboratorium, antara lain yaitu *Coliphage stock* (*MS2* dan *Q β*), Sampel air Sungai Code, Kanamycin, Nalidixin, *Tryptone broth*, Glukosa, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, *Aquadest*, NaCl 0.9%, NaOH 1M, Media *Cromocult Coliform Agar* (CCA), Media *Salmonella Shigella Agar* (SSA), Media *Bacteriological Agar*.

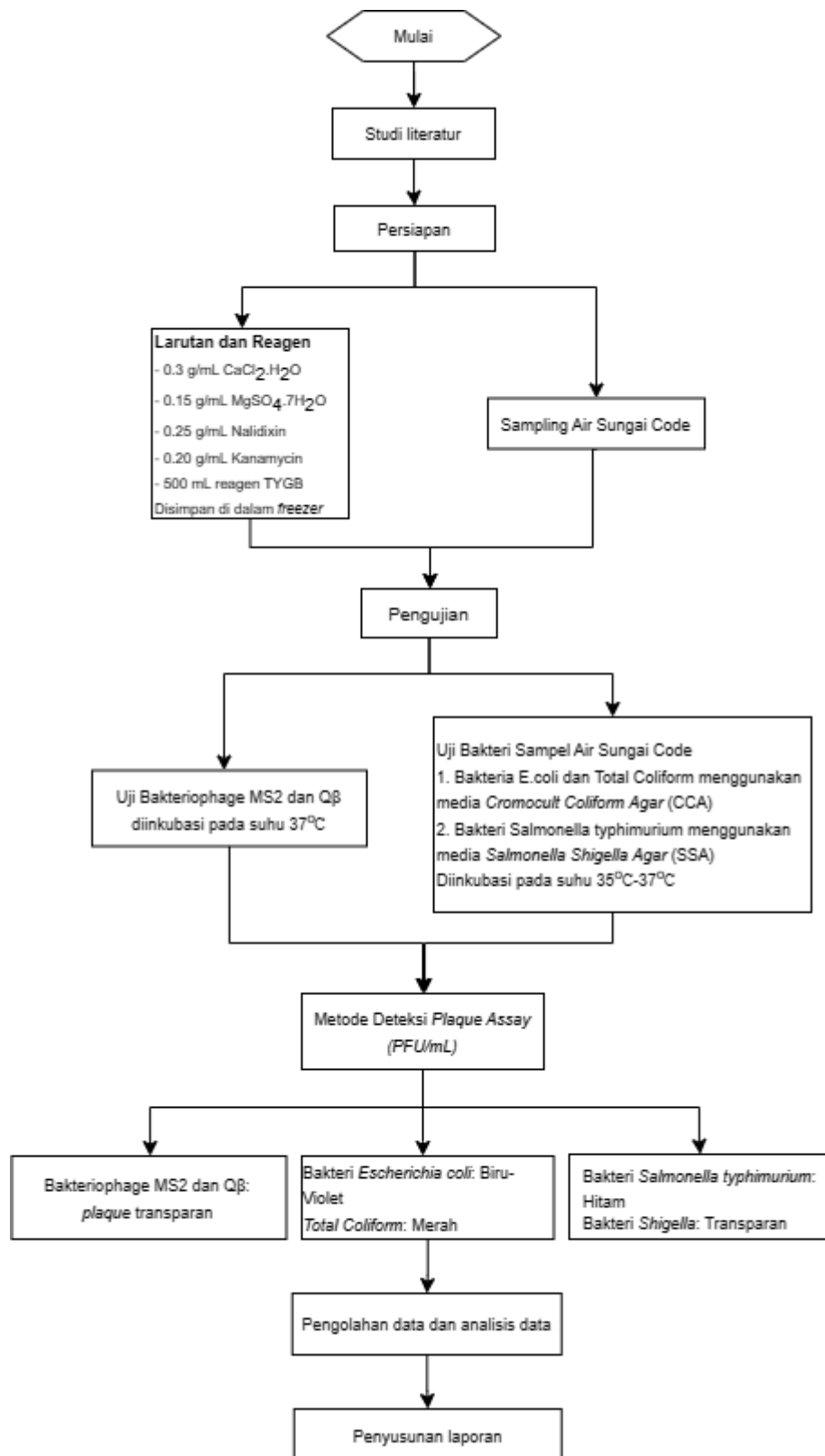
3.3 Prosedur Analisis Data

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan Universitas Islam Indonesia dengan melakukan eksperimen dan analisis dengan metode analisis deskriptif kuantitatif dan kualitatif. Metode analisis kuantitatif dilakukan dengan mengemukakan hipotesis yang diturunkan dari suatu teori dan diuji keabsahannya berdasarkan data yang diperoleh dari suatu penelitian. Sedangkan metode analisis kualitatif dilakukan dengan melakukan *review* terhadap acuan dan referensi yang dapat menunjang data dari penelitian yang dilakukan. Penelitian diawali dengan pengujian terhadap sampel bakteriofag *MS2* dan *Q β* untuk mengetahui apakah kedua bakteriofag tersebut dapat terdeteksi. Selanjutnya, dilakukan pengambilan sampel air Sungai Code di 7 lokasi titik

sampling berbeda yang berada di sepanjang aliran Sungai Code dan diuji di Labotatorium Bioteknologi Teknik Lingkungan Universitas Islam Indonesia.

Dari hasil pengujian tersebut kemudian dapat ditarik kesimpulan apakah terdapat bakteri Total *Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *Shigella, sp.* di air tersebut. Data yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengevaluasi kualitas air Sungai Code berdasarkan parameter biologi serta untuk mengetahui apakah keberadaan bakteri dengan jumlah tertentu dapat menjadi indikasi adanya keberadaan indikator virus lingkungan (*Bacteriophage*) di suatu perairan. Adapun data parameter fisika dalam penelitian ini akan digunakan sebagai data pelengkap.

Alur penelitian tahapan pelaksanaan penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3.8.



Gambar 3. 8. Diagram Alir Penelitian

3.4 Studi Literatur

Studi literatur dilakukan dengan mengumpulkan data dan melakukan peninjauan terhadap teori yang relevan dengan topik penelitian ini untuk mendukung penelitian yang dilakukan. Studi literatur diperoleh dari jurnal, peraturan yang berlaku, buku teks maupun tugas akhir yang serupa dengan topik.

3.5 Metode Pengambilan Sampel Air Sungai

Metode pengambilan sampel air sungai yang dilakukan yaitu metode *Grab Sampling*. Pengambilan air sungai dengan metode *Grab Sampling* (pengambilan sesaat) ini mengacu pada SNI 03-7016-2004 tentang Tata Cara Pengambilan Contoh dalam Rangka Pemantauan Kualitas Air pada Suatu Daerah Pengaliran Sungai. Proses pengambilan sampel untuk pengujian parameter biologi dilakukan dengan cara aseptis untuk menghindari kontaminasi. Terdapat beberapa langkah dilakukan dalam melakukan pengambilan sampel diantaranya yaitu menyiapkan wadah sampel berupa jerigen atau botol plastik ukuran 1 – 2.5 liter. Selanjutnya mencuci botol plastik dan tutupnya menggunakan air bersih dan dibilas menggunakan aquades sebanyak tiga kali. Selanjutnya, sampel air sungai dimasukkan kedalam botol plastik dan diberi label. Kemudian sampel dimasukkan kedalam *ice box* dan dibawa ke laboratorium untuk dianalisa. Adapun untuk parameter fisika dilakukan pengujian langsung di lokasi sampling menggunakan alat *Water Quality Tester*.

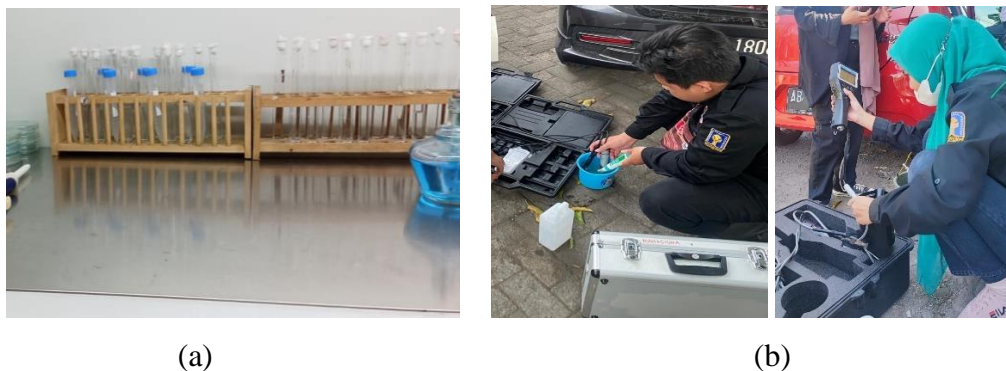




Gambar 3.9. Pengambilan sampel air Sungai Code

3.6 Metode Pengujian Sampel Air Sungai Code

Pengujian sampel yang dilakukan dalam penelitian ini dibagi menjadi dua menurut tempat pengujiannya, yaitu pengujian langsung dilokasi sampling (*in-situ*) dan pengujian dilokasi selain lokasi sampling (*ex-situ*). Pengujian yang dilakukan secara *in-situ* yakni parameter fisika diantaranya debit air, pH, Suhu, TDS, EC dan ORP. Sedangkan parameter biologi yang terdiri dari bakteri *Total Coliform*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* diuji secara *ex-situ* di laboratorium.



Gambar 3.10. (a) Pengujian *ex-situ* (b) Pengujian *in-situ*

3.7 Metode Pengujian *Bacteriophage*

Bacteriophage dihitung dengan *single-agar-layer methods* (Haramoto *et al*, 2012). Metode analisis pengujian konsentrasi *bacteriophage* F-RNA virus lingkungan dilakukan dengan mengacu pada metode PFU ISO 10705-1:1995

dengan menggunakan bakteri *E.coli* K12 dan *Salmonella typhimurium* WG49 sebagai strain inang dan menggunakan uji *Plaque Assay* untuk kuantifikasi *bacteriophage* F-RNA.

Dalam melakukan pengujian *bacteriophage* ini diawali dengan melakukan preparasi awal yaitu membuat beberapa larutan kimia diantaranya Kalsium Klorida ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), Magnesium Sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Nalidixin ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_3$) dan Kanamycin ($\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_{11}$) serta media TYGB. Larutan-larutan tersebut disiapkan 2 hari sebelum dilakukan uji *Plaque Assay* sehingga dapat disimpan di dalam *freezer*. Adapun komposisi dan tahap pembuatan larutan dapat dilihat pada Tabel 2.4 dan Tabel 2.5.

Tabel 2.5. Langkah Preparasi Larutan Kimia

Preparasi Larutan Kimia	
a.	0.3 g/mL Kalsium Klorida ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) Untuk membuat larutan 0.3 g/mL Kalsium Klorida ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) dimulai dengan menimbang 3 g $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Kemudian tuang ke dalam labu ukur 10mL. Tambahkan aquades hingga tanda batas. Sterilisisasi menggunakan Autoclave. Setelah itu diamkan hingga suhu ruang.
b.	0.15 g/mL Magnesium Sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) Untuk membuat larutan 0.15 g/mL Magnesium Sulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dimulai dengan menimbang 1.5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Kemudian tuang ke dalam labu ukur 10mL. Tambahkan aquades hingga tanda batas. Sterilisisasi menggunakan Autoclave. Setelah itu diamkan hingga suhu ruang.
c.	0.25 g/mL Nalidixin ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_3$) Untuk membuat larutan 0.25 g/mL Nalidixin ($\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_3$) dimulai dengan menimbang 0.625 g Nalidixin. Kemudian tuang ke dalam gelas beaker. Tambahkan 20 mL aquades dan 5 mL NaOH. Selanjutnya di <i>stirrer</i> hingga larut. Kemudian disaring dan dipindahkan ke dalam labu ukur 25 mL. Sterilisisasi menggunakan Autoclave. Setelah itu diamkan hingga suhu ruang.

d. 0.20 g/mL Kanamycin ($C_{18}H_{36}N_4O_{11}$)

Untuk membuat larutan 0.20 g/mL Kanamycin ($C_{18}H_{36}N_4O_{11}$) dimulai dengan menimbang 0.2 g Kanamycin. Kemudian tuang ke dalam labu ukur 10 mL. Tambahkan aquades hingga tanda batas. Selanjutnya di *stirrer* hingga larut. Sterilisasi menggunakan Autoclave. Setelah itu diamkan hingga suhu ruang.

Tabel 2.6. Bahan media TYGB (TYGA)

Bahan	Satuan	Jumlah yang dibutuhkan
MQ water/Aquades	mL	250
Tryptone broth	g	2.5
Glukosa	g	0.25
NaCl	g	2
CaCl ₂ .2H ₂ O 0.3 g/mL	mL	0.25
MgSO ₄ .7H ₂ O 0.15 g/mL	mL	0.25
(Agar Bacteriological)	g	2.25

Langkah pembuatan:

Preparasi media TYGB dibuat sebanyak 250 mL. Pertama, timbang 2.5 g Tryptone, 0.25 g Glukosa, 2 g NaCl, 0.25. Selanjutnya masukkan kedalam Labu Erlenmeyer 250 mL dan tambahkan larutan 0.25 mL CaCl₂.H₂O, 0.25 mL larutan MgSO₄.7H₂O yang sudah dibuat sebelumnya. Setelah itu, tambahkan aquades hingga tanda batas. Aduk media TYGB menggunakan *magic stirrer* hingga larut. Sterilkan menggunakan Autoclave dan setelah selesai diamkan hingga suhu ruang. Media TYGB kemudian digunakan sebanyak 10 mL untuk melakukan *re-culture host* bakteri sedangkan sisanya dapat disimpan ke dalam *freezer* dan dapat digunakan lagi untuk satu bulan.

Preparasi media TYGA dibuat sebanyak 250 mL. Pertama, timbang 2.5 g Tryptone, 0.25 g Glukosa, 2 g NaCl, 0.25 dan 2.25 g Agar Bacteriological. Selanjutnya, masukkan kedalam Labu Erlenmeyer 250 mL dan tambahkan larutan $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.3 g/mL, 0.25 mL larutan $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.15 g/mL yang sudah dibuat sebelumnya. Setelah itu, tambahkan aquades hingga tanda batas. Aduk media TYGA menggunakan *magic stirrer* hingga larut. Sterilkan menggunakan Autoclave dan setelah selesai diamkan hingga suhu ruang. Berbeda dengan TYGB, media TYGA dibuat saat waktu pengujian dilakukan.



(a) Menimbang bahan



(b) media TYGA

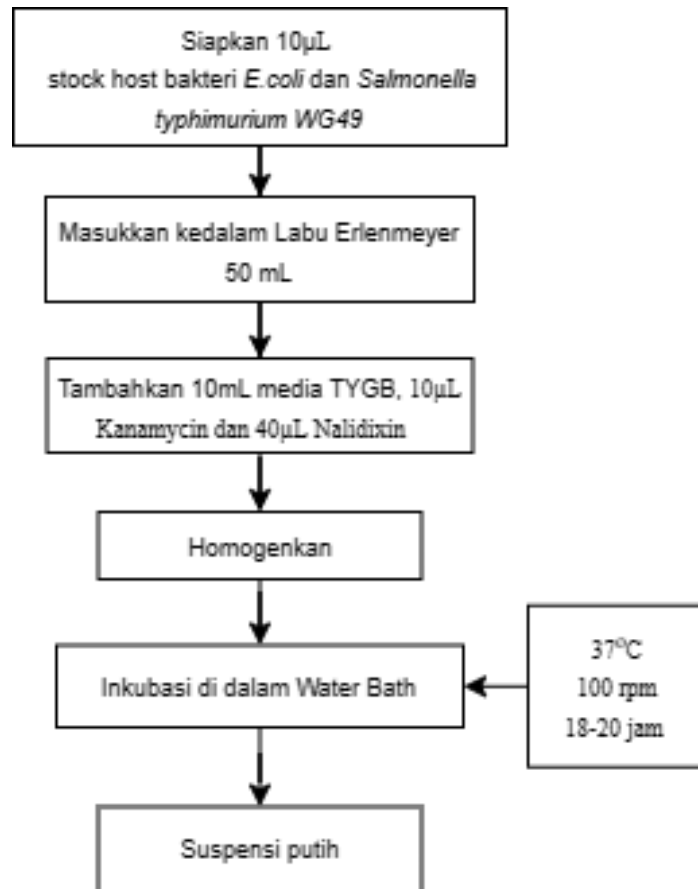


(c) media TYGB

Gambar 3.11. Preparasi pengujian *Bacteriophage*

3.7.1 Preparasi *Host* Bakteri

Host bakteri disiapkan sehari sebelum pengujian. Bakteri yang digunakan yaitu bakteri *E.coli* K12 dan *Salmonella typhimurium* WG49. Preparasi host bakteri ini dibuat dengan memasukkan 10 mL media TYGB kedalam labu Erlenmeyer 50 mL. Tambahkan 10 μL stok host bakteri, 10 μL Kanamycin dan 40 μL Nalidixin. Selanjutnya, homogenkan dan inkubasi didalam *Water Bath* dengan suhu 37°C dan kecepatan 100 rpm selama 18-20 jam. Berikut tahapan *re-culture* host bakteri dapat dilihat pada Gambar 3.12.



Gambar 3. 12 Diagram Alir Preparasi *Re-Culture* Host Bakteri

Setelah diinkubasi, larutan akan berubah menjadi suspensi putih seperti yang terlihat pada Gambar 3.14.



Gambar 3.13. Inkubasi host bakteri di *Water Bath*

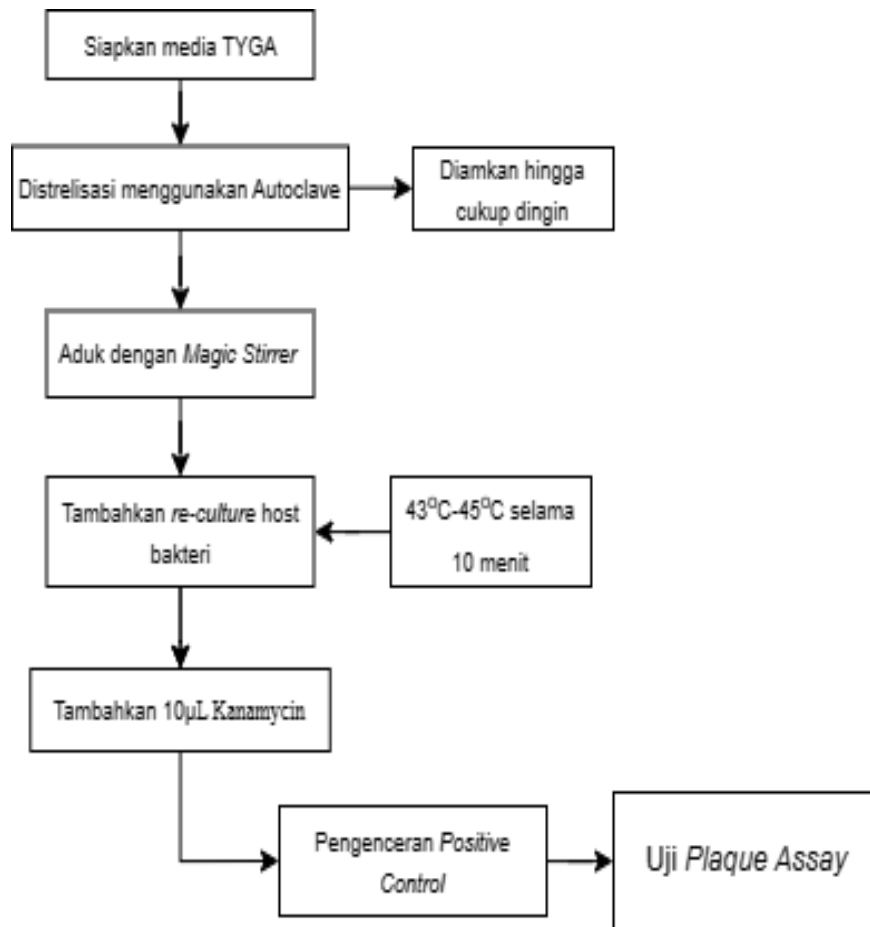


Gambar 3.14. Suspensi Putih dari *Re-Culture*

3.7.2 Uji *Plaque Assay Bacteriophage*

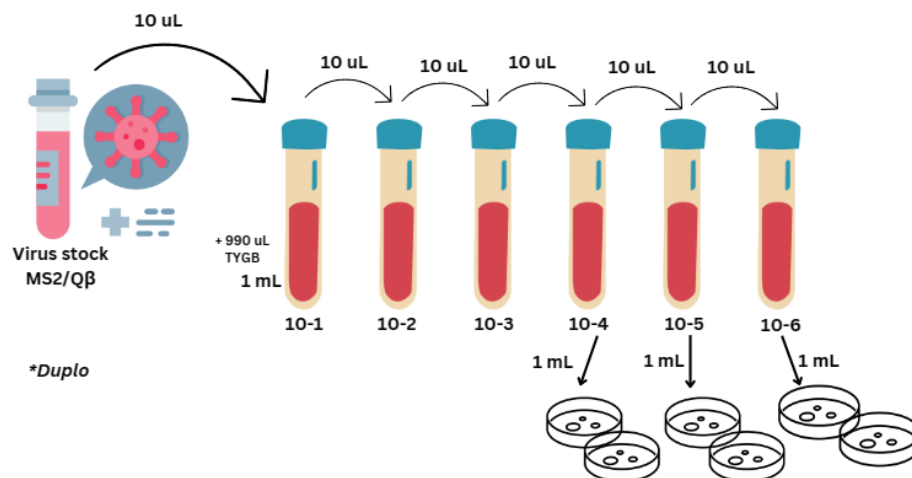
Uji *Plaque Assay* dilakukan dengan melakukan pengenceran terhadap media dengan *bacteriophage MS2* dan *Q β* . Dalam hal ini, *bacteriophage MS2* diinfeksi dengan host inang *E.Coli K12* dan *bacteriophage Q β* diinfeksi dengan host inang *Salmonella typhimurium WG49* sesuai dengan standar ISO 10705-1 (Haramoto *et al.*, 2012).

Langkah pertama yang dilakukan yaitu membuat media TYGA sesuai dengan komposisi yang dapat dilihat pada Tabel 2.4. Media TYGA kemudian disterilkan menggunakan Autoclave. Setelah sterilisasi, media TYGA di diamkan hingga cukup dingin dan setelah itu di aduk menggunakan *magic stirrer* dengan menambahkan suspensi bakteri yang telah di *re-culture* sesuai peruntukannya masing-masing. Pengadukan dilakukan pada suhu antara 43°C-45°C selama 10 menit. Dibawah ini merupakan diagram alir Uji *Plaque Assay*.



Gambar 3. 15. Diagram Alir Uji *Plaque Assay*

Pengenceran untuk media sampel *positive control* disiapkan sebagaimana yang dapat dilihat pada gambar 3.12.

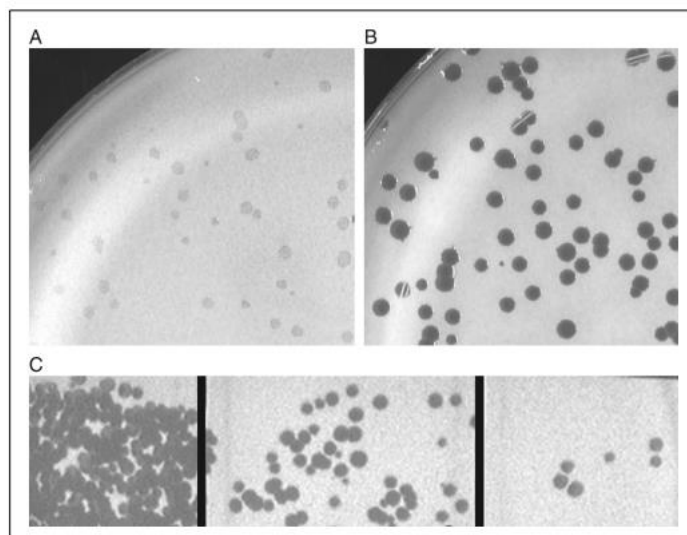


Gambar 3.16. Proses *Dilution Positive Control*

Sebagai *positive control*, siapkan 1 mL pengenceran dengan serial 10^1 , 10^2 , 10^4 , dan 10^6 . Pengenceran dilakukan secara duplo dengan menambahkan 990 μL media TYGB dan diencerkan dengan 10 μL *stock bacteriophage MS2* dan *Q β* . Sedangkan untuk *negative control* hanya media kultur yang dituangkan kedalam cawan petri tanpa menambahkan apapun.

Masing-masing serial pengenceran sebanyak 1 mL kemudian dituang kedalam cawan petri steril serta menambahkan media TYGA yang telah dihomogenkan dengan host bakteri *re-culture* dengan menggunakan teknik *Pour Plate*. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam (Haramoto *et al.*, 2012). Salah satu indikator bahwa *bacteriophage* terdeteksi yakni terdapat zona bening atau transparan pada uji *Plaque Assay*. Kuantifikasi *bacteriophage* kemudian diukur dengan menghitung jumlah plak yang tumbuh menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Plaque per mL [PFU/mL]} = \frac{\text{Jumlah plaque} \times \text{Dilution Faktor}}{\text{Volume (mL)}}$$



Gambar 3. 17. Contoh plak *bacteriophage*

Sumber: (Pelzek *et al.*, 2013)

3.8 Metode Isolasi Bakteri Air Sungai Code

Metode ini dilakukan untuk menganalisis keberadaan bakteri di suatu sampel yaitu air Sungai Code dengan mengisolasi bakteri *E.coli* dan Total *Coliform* menggunakan media *Cromocult Coliform Agar* (CCA) (Haramoto *et al.*, 2012) serta bakteri *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* menggunakan media *Salmonella Shigella Agar* (SSA). Keempat bakteri tersebut dilakukan pengujian kultur bakteri sebagai host inang untuk isolasi bakteriofag (Jatmiko, *et al.*, 2018). Dengan cara yang sama dimana pada masing-masing *site* sampel air sungai dilakukan pengenceran sebanyak 2 kali dengan serial *dilution* 10^{-1} , 10^{-2} . Pengenceran dilakukan dengan menambahkan 9 mL larutan NaCl 0.9% dan 1 mL sampel air kedalam tabung reaksi steril. Kemudian masing-masing seri pengenceran diambil sebanyak 1 mL dan dikultur. Metode yang digunakan dalam proses kultur bakteri tersebut yaitu dengan teknik *Pour Plate* dimana 1 mL sampel pengenceran dituang ke dalam cawan petri yang sudah disetrilkan, lalu ditambahkan dengan media agar yang masih cair dengan suhu ruang di tiap cawan petri sesuai peruntukan masing-masing bakteri. Selanjutnya didiamkan hingga media mengeras. Media kultur yang sudah mengeras kemudian diinkubasi pada suhu antara 35°C – 37°C selama 24 jam dalam posisi terbalik. Setelah 24 jam, cawan petri diamati dan jumlah koloni yang tumbuh dihitung secara visual atau menggunakan alat *colony counter*. Kelimpahan bakteri dihitung berdasarkan jumlah koloni per unit atau CFU dalam setiap 1 mL. Berikut adalah rumus yang dapat digunakan.

$$N \text{ (CFUmL)} = \frac{n \times fp}{\text{Volume (mL)}}$$

Dengan:

N = Kelimpahan bakteri

n = Jumlah koloni

fp = Faktor pengenceran

Dalam prosedur pembuatan media *Cromocult Coliform Agar* (CCA) dan *Salmonella Shigella Agar* (SSA) dilakukan dengan menggunakan cara sebagai berikut:

Masing-masing media CCA dan SSA ditimbang sebanyak 2.65 g/mL dan 6.3 g/mL untuk 100 mL menggunakan timbangan analitik. Media yang sudah ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer dan ditambahkan 500 mL akuades. Aduk dan panaskan larutan media menggunakan *magic stirrer* hingga mendidih dan larut dengan sempurna. Setelah selesai dipanaskan diamkan dan tunggu hingga suhunya 50°C – 60°C atau mencapai suhu ruang. Terakhir, media siap digunakan pada cawan petri steril. Untuk proses sterilisasi kedua media ini tidak cocok menggunakan *Autoclave* karena dapat merusak komponen media.



Gambar 3.18. Inkubasi 24 jam

BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengambilan Sampel Air Sungai

Pengambilan sampel air Sungai Code dengan menggunakan metode *Grab Sampling* (pengambilan sesaat) yang mengacu pada SNI 03-7016-2004 ini terdapat 7 *site* sampling yang dipilih dalam menguji keberadaan bakteri potensialnya. Berikut adalah lokasi sampling beserta titik koordinat yang dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1. Lokasi Pengambilan Sampel Air Sungai Code

Kode Site	Lokasi Sampling	Titik Koordinat
1	Jembatan Perak di Jl. Kemiri, Purwobinangun, Kecamatan Pakem, Kabupaten Sleman	Garis Lintang 7°36'58.15"S dan 110°24'57.37"T.
2	Jembatan Kamdamen di Jl. Kapten Haryadi, Ngentak, Sinduharjo, Kecamatan Ngaglik, Kabupaten Sleman	Garis Lintang 7°43'21.61"S dan 110°23'21.50"T
3a	Jembatan Pogung atau Jembatan Baru UGM di Gg. Code I, Gemawang, Siduandi, Kecamatan Mlati, Kabupaten Sleman	Garis Lintang 7°45'41.42"S dan 110°22'13.66"T
3b		
4	Jembatan Jambu di Kali Code, Suryatmajan, Danurejan, Kota Yogyakarta	Garis Lintang 7°47'38.55"S dan 110°22'10.69"T
5	Jembatan Tungkak di Jl. Kolonel Sugiyono 75, Kecamatan Mergangsan, Kota Yogyakarta	Garis Lintang 7°48'56.85"S dan 110°22'29.04"T
6	Jembatan Imogiri Barat di Jl. Imogiri Barat, Glagah Kidul, Tamanan, Kecamatan Banguntapan, Kabupaten Bantul	Garis Lintang 7°51'5.74"S dan 110°22'31.23"T

Dipilihnya lokasi pada Tabel 4.1 dikarenakan dapat mewakili kondisi air Sungai Code baik di Hulu, Tengah maupun Hilir. Dimana, pada *site* 1 dan *site* 2 dapat mewakili kondisi Sungai Code di bagian hulu yang masih memiliki kondisi lahan yang hijau dan alamnya masih dalam kondisi baik karena letaknya yang berdekatan dengan Gunung Merapi serta bukan merupakan pusat kota. Sedangkan *site* 3a, 3b, 4 dan 5 dapat mewakili kondisi Sungai Code bagian tengah yang mana sudah terdapat banyak aktivitas masyarakat, khususnya *site* 4 yang berada di Jembatan Jambu, Kali Code dan *site* 5 yang berada di Jembatan Tungkak, Jl. Kolonel. Kedua lokasi tersebut berada di pusat kota sehingga terdapat banyak pemukiman warga, perhotelan, dan pusat perbelanjaan. Hal tersebut menyebabkan kondisi badan air Sungai Code menjadi kotor akibat dari limbah buangan yang dilakukan masyarakat setempat. Sedangkan *site* 6 yang berada di Jembatan Imogiri Barat dapat mewakili kondisi air Sungai Code bagian hilir karena lokasinya yang terletak di selatan Provinsi DIY. Selain itu, kondisi air sungai yang berada di lokasi tersebut terlihat lebih keruh akibat adanya tumpukan sampah serta menampung beban pencemar dari keseluruhan *site* yang ada.

4.2 Hasil Uji *Bacteriophage MS2* dan *Qβ*

Analisis pengujian konsentrasi *bacteriophage* F-RNA virus lingkungan yang dilakukan dengan mengacu pada metode PFU ISO 10705-1:1995 ini untuk mengetahui potensial *bacteriophage* yang dapat digunakan untuk mengolah air sungai dan biocontrol terhadap kehadiran mikroorganisme lainnya. Plak lisis yang terbentuk dari pengujian *bacteriophage* akan terlihat transparan. Namun, pada penelitian ini, jumlah plak lisis baik dari *MS2* maupun *Qβ* tidak ada yang tumbuh atau sulit terdeteksi sehingga menunjukkan hasil *Plaque Assay* negatif. Pertumbuhan host inang sangat mempengaruhi pembentukan plak, apabila pertumbuhannya tidak merata akan berpengaruh terhadap kemampuan infeksi sel dari satu sel ke sel lainnya (Iswadi, 2018). Berikut adalah data hasil pengujian *bacteriophage MS2* dan *Qβ* yang dilakukan di Laboratorium Bioteknologi FTSP UII dapat dilihat pada Tabel 4.2.

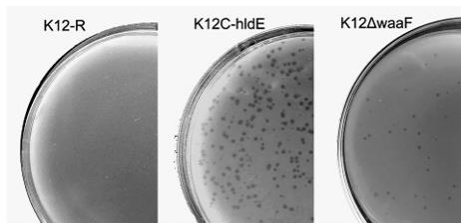
Tabel 4. 2. Data PFU/mL *Bacteriophage Q β* dan *MS2*

Coliphage	F. Pengenceran	Jumlah Plaque	PFU/mL
Qβ	10 ⁻¹ (a)	0	0
	10 ⁻¹ (b)	0	0
	10 ⁻² (a)	0	0
	10 ⁻² (b)	0	0
	10 ⁻⁴ (a)	0	0
	10 ⁻⁴ (b)	0	0
	10 ⁻⁶ (a)	0	0
	10 ⁻⁶ (b)	0	0
MS2	10 ⁻¹ (a)	0	0
	10 ⁻¹ (b)	0	0
	10 ⁻² (a)	0	0
	10 ⁻² (b)	0	0
	10 ⁻⁴ (a)	0	0
	10 ⁻⁴ (b)	0	0
	10 ⁻⁶ (a)	0	0
	10 ⁻⁶ (b)	0	0
Control Negative		-	-

Tidak terdeteksinya *bacteriophage* dapat dipengaruhi oleh temperatur atau plak yang terbentuk berukuran sangat kecil (Iswadi, 2018). Hal tersebut juga dapat disebabkan oleh beberapa faktor lainnya seperti virus *MS2* dan *Q β* yang diuji inaktivasi (tidak aktif), pemantauan terhadap suhu media agar, ataupun kondisi suhu optimum saat diinkubasi. Dibawah ini ditunjukkan perbandingan hasil pengujian terhadap bakteriofag *MS2* dan *Q β* menggunakan metode *Plaque Assay* dan hasil penelitian yang dilakukan Chen et al., (2020) dengan menggunakan bakteriofag *Bp7* terhadap *E.coli K12* pada Gambar 4.1.



(a) Hasil Penelitian Pribadi



(b) Hasil Penelitian (Chen et al., 2020)

Gambar 4.1. Hasil Penelitian *Bacteriophage*

Penelitian yang dilakukan Chen *et al.* (2020) menggunakan bakteriofag Bp7 merupakan *T-even* dengan rentang host yang luas khusus untuk bakteri *E.coli* termasuk *E.coli* K12. Adapun metode yang digunakan dalam penelitian tersebut yakni menggunakan metode *phage adsorption assay*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Hossain, *et al.*, (2020), pertumbuhan *bacteriophage Q β* menggunakan bakteri *E.coli* sebagai strain *host* inang menunjukkan bahwa *bacteriophage Q β* dapat tumbuh secara efisien pada suhu antara 37.2°C dan 45.3°C. Dalam jurnal tersebut juga disebutkan bahwa *bacteriophage Q β* mampu bereplikasi pada suhu tertinggi yakni 45.3°C dalam 114 hari (~1260 *generation*). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kishimoto *et al.* mengisolasi strain *Escherichia* yang beradaptasi secara termal dan mampu tumbuh pada suhu hingga 46°C (Hossain, *et al.*, 2020). Selain suhu inkubator, suhu yang digunakan dalam penyimpanan *bacteriophage* juga menjadi faktor terpenting yang menentukan aktivitas dari *bacteriophage* tersebut (Jończyk *et al.*, 2011). Inaktivasi virus mengacu pada hilangnya infektivitas partikel virus. Virus tidak dapat berkembang biak sendiri dan hanya dengan menginfeksi sel-sel inang. Jika komponen virus rusak sebelum partikel virus bersentuhan dengan sel inang, virus tidak dapat berkembang biak.

Tabel 4. 3. Deteksi virus dan protozoa di pada air minum di Jepang

Pathogen	Sampel positif		samples testing positive/total samples tested (% positive)	Concentration in positive samples (min–max) (copies/l or (oo)cysts/l)
	Juli 2008	Des 2009		
RNA Virus				
NoV GI	0	1	8/64 (13)	270-33.000
NoV GIII	0	0	0/64 (0)	-
DNA Virus				
HuAdV 40/41	8	7	25/64 (39)	210-17.000
JCPyV	1	0	2/64 (3)	290-1.300

Sumber: (Haramoto *et al.*, 2012)

Dalam penelitian yang lain, *E.coli* terkonsentrasi dalam kultur murni dan diinkubasi dengan lisis MS2 untuk infeksi. Dari penelitian tersebut *E.coli*

terdeteksi 10^4 CFU/mL dengan waktu pengujian 2 jam (Hussain *et al.*, 2021a). Penelitian yang dilakukan Kitajima *et al.* (2009) dengan mendeteksi GIV *norovirus* di air limbah dan air sungai di Jepang menggunakan *TaqMan-based real-time* RT-PCR diperoleh konsentrasi tertinggi dari limbah dan air sungai yakni 6.9×10^4 dan 1.5×10^4 *copies* per liter. Beberapa penelitian telah menunjukkan kejadian yang tinggi terhadap NoV GI dan GII di air sungai di seluruh dunia (Haramoto *et al.*, 2012).

4.3 Hasil Isolasi Indikator Mikroorganisme

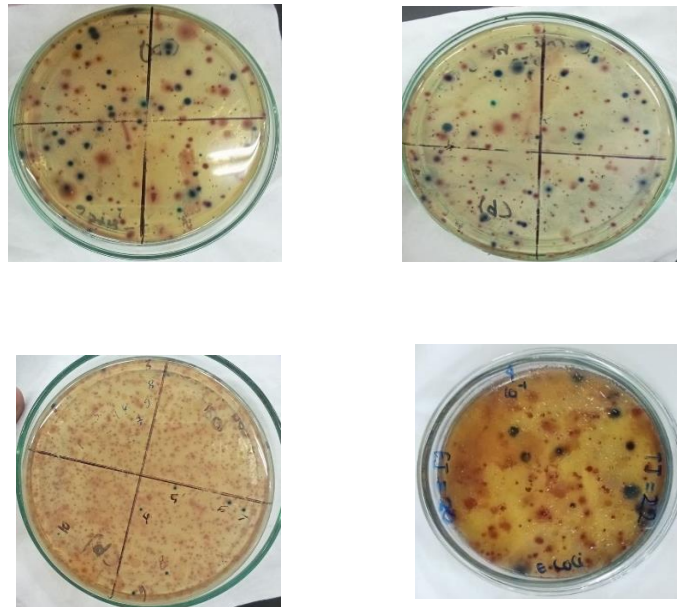
Berdasarkan PP No.22 Tahun 2021, parameter mikrobiologi dibagi menjadi parameter Total *Coliform* dan *Fecal Coliform*. Dimana pada penelitian ini terdapat parameter Total *Coliform* dan *Fecal Coliform* yang terdiri dari bakteri *E.coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* Terdapat 4 kelas dalam klasifikasi mutu air sesuai peruntukannya. Kelas I yaitu air yang peruntukannya dapat digunakan sebagai air baku air minum, Kelas II yaitu air yang peruntukannya dapat digunakan untuk prasarana/sarana rekreasi air, pembudidayaan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertanian, dan untuk peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut, Kelas III yaitu air yang peruntukannya untuk pembudidayaan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertamanan dan Kelas IV yaitu air yang peruntukannya lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut.

Pemantauan kualitas air sungai yang dilakukan Dinas Lingkungan Hidup Yogyakarta mengacu pada status mutu air sungai Kelas II yakni air yang peruntukannya dapat digunakan untuk prasarana/sarana rekreasi air, pembudidayaan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertanian, dan untuk peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut.

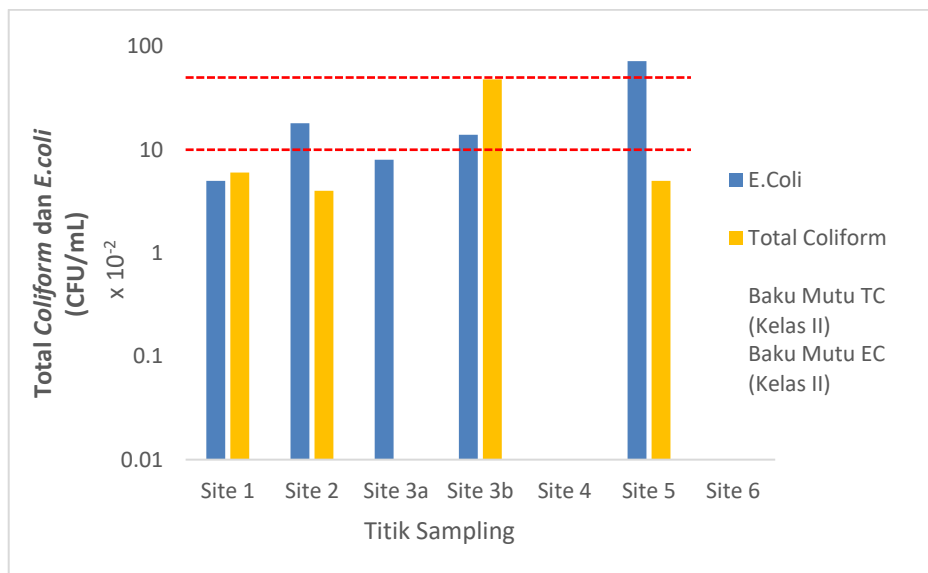
4.3.1 Hasil Isolasi Bakteri *Escherichia coli* dan Total *Coliform*

Hasil kultur bakteri yang dilakukan pada suhu inkubasi 35°C dengan menggunakan *Cromocult Coliform Agar* (CCA) yakni untuk bakteri *E.coli* koloni

bakteri yang dihasilkan akan terlihat dengan warna biru-violet. Sedangkan untuk bakteri Total *Coliform* akan berwarna merah.



Gambar 4. 2. Bakteri *E.coli* dan *Total Coliform* yang tumbuh pada media *Cromocult Coliform Agar (CCA)*



Gambar 4. 3. Grafik Konsentrasi Bakteri *E.coli* dan *Total Coliform*

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa pada masing-masing sampel secara berurutan dari *site 1* hingga *site 6* memiliki kadar konsentrasi

bakteri *E.coli*. berkisar antara 5×10^2 CFU/mL – 7.2×10^3 CFU/mL. Sedangkan kadar konsentrasi bakteri Total *Coliform* berkisar antara 4×10^2 CFU/mL – 5×10^3 CFU/mL. Pengujian yang dilakukan dengan serial pengenceran 10^{-2} terhadap 1 mL sampel air Sungai Code menunjukkan jumlah konsentrasi bakteri *E.coli* di *site* 5 yang berlokasi di Jembatan Tungkak cenderung lebih tinggi yakni 7.2×10^3 CFU/mL. Sedangkan kadar maksimum Total *Coliform* berada di *site* 3b dengan jumlah konsentrasi 5×10^3 CFU/mL.

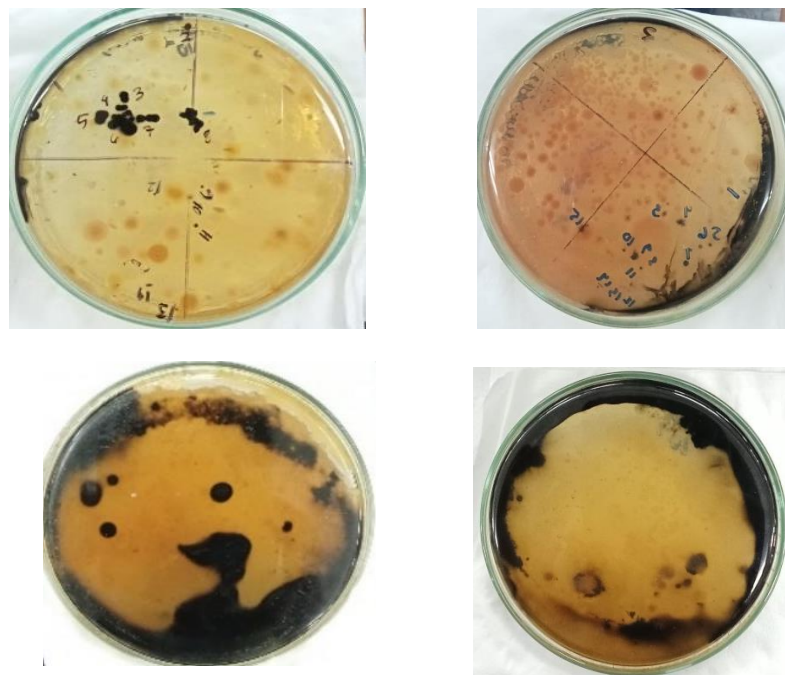
Penelitian yang dilakukan Anisafitri, (2020a) terhadap bakteri *coliform* menyebutkan suhu yang baik untuk pertumbuhan *E.coli* adalah 37°C. Berdasarkan hasil penelitian indikator mikroorganisme yang diuji dari Sungai Code menunjukkan adanya tingkat cemaran oleh bakteri *E.coli* dan Total *coliform*. Keberadaan bakteri *coliform* pada perairan dapat bersifat patogen terhadap keberadaan manusia yang tinggal di sekitaran perairan tersebut. Adanya bakteri *coliform* di dalam air mengindikasikan kemungkinan hadirnya mikroba patogen yang berbahaya bagi kesehatan (Anisafitri, dkk, 2020a).

Kadar nilai tersebut sudah berada di status mutu Kelas II berdasarkan PP No.22 Tahun 2021 sehingga tidak dapat diperuntukkan sebagai air baku air minum. Keberadaan bakteri *E.coli* dan Total *Coliform* di suatu perairan dapat menjadi indikator bahwa kondisi perairan tersebut dari segi kualitas sudah menurun dan dapat mengakibatkan penyakit saluran pencernaan apabila air tersebut digunakan untuk dikonsumsi. Dalam Peraturan Menteri Kesehatan No.32 Tahun 2017 juga dijelaskan Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan untuk Media Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi, kadar maksimum untuk Total *Coliform* 0 CFU/100 mL dan *E.coli* 50 CFU/100 mL

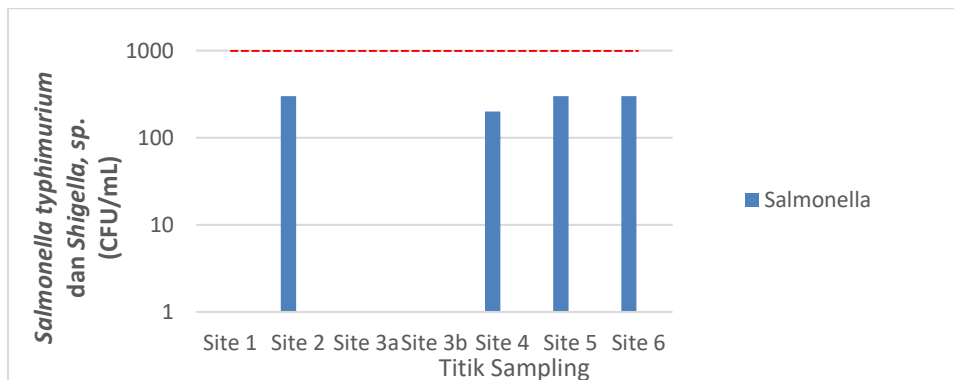
4.3.2 Hasil Isolasi Bakteri *Salmonella typhimurium* dan *Shigella Sp.*

Salmonella typhimurium dan *Shigella, sp.* merupakan agen utama yang menyebabkan infeksi gastrointestinal terutama pada negara berkembang. *Salmonella Shigella Agar* (SSA) menjadi media selektif yang digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella typhimurium* dan beberapa spesies *Shigella, sp.*. Kandungan yang ada di media SSA antara lain pepton, laktosa, natrium sitrat,

natrium tiosulfat, besi (III) sitrat, *brilliant green*, *natural red* dan *bile salt*. Dengan menggunakan media selektif SSA, koloni bakteri yang dihasilkan bakteri *Salmonella typhimurium* akan terlihat dengan warna hitam sedangkan untuk bakteri *Shigella, sp* koloni bakteri yang dihasilkan akan terlihat berwarna bening atau *straw coloured*. Gambar 4.4 menunjukkan koloni bakteri yang terbentuk dengan inkubasi 35°C selama 24 jam.



Gambar 4. 4. Bakteri *Salmonella typhimurium* yang tumbuh pada Media *Salmonella Shigela Agar (SSA)*



Gambar 4. 5. Grafik Konsentrasi Bakteri *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*

Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa pada masing-masing sampel secara berurutan dari *site* 1 hingga *site* 6 menunjukkan kadar maksimum bakteri *Salmonella typhimurium* yakni 3×10^2 CFU/mL. Sedangkan konsentrasi yang mengandung bakteri *Shigella, sp.* dalam penelitian ini tidak dapat teridentifikasi dengan baik sehingga diperoleh kadar konsentrasi bakteri *Shigella, sp* yakni 0 CFU/mL.

Beberapa studi yang dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Shigella, sp.* umumnya bersumber dari olahan makanan. Penelitian yang dilakukan (Husna et al., 2019) terhadap bakteri *Shigella, sp.* pada bahan pangan olahan daging menunjukkan jumlah rerata bakteri *Shigella, sp.* sebesar $1,68 \times 10^6$ CFU/g. Oleh karena itu, baik bakteri *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* umumnya lebih sering ditemukan melalui kontaminasi pada makanan dimana sumber penularan yang paling sering dilaporkan adalah ayam 37,3%, telur 10,5% dan unggas lainnya 4,5% (Husna et al., 2019).

4.4 Hubungan antara *Bacteriophage* dan Bakteri

Solusi yang dapat dilakukan untuk mengelola air sungai dari bakteri patogen yakni dengan memanfaatkan penggunaan *bacteriophage* karena memiliki kemampuan dalam menurunkan penyakit *bacterial* baik sebagai agen deteksi penyakit maupun agen terapi *foodborne pathogen* serta biokontrol pada rantai makanan. Terdapat hubungan antara bakteriofag dan sel bakteri (Rogovski et al., 2021). *Bacteriophage* menggunakan sel bakteri untuk bereplikasi dan umumnya sangat spesifik untuk strain tertentu dalam spesies bakteri tunggal (Monk et al., 2010). Sehingga, keragaman *bacteriophage* tergantung dengan bakteri yang menjadi inangnya (Hussain et al., 2021b). Meskipun begitu, terdapat beberapa bakteriofag yang mampu menginfeksi banyak spesies bakteri dalam satu genus atau yang mendekati karakteristik host inang spesifik mereka. Di sisi lain, bakteriofag menunjukkan siklus hidup yang berbeda dalam sel bakteri, yaitu siklus litik dan siklus lisogenik.(Hussain et al., 2021b). Pertama, bakteriofag menempel dan memasukkan asam nukleat mereka kedalam bakteri yang menjadi host inangnya untuk memulai siklus litiknya dan mereplikasi genom mereka.

Sama halnya selama siklus lisogenik, asam nukleat akan tetap diam dan bereplikasi sebagai bagian dari genom bakteri selama *cell division* (Hussain *et al.*, 2021b).

Dengan menggunakan metode *Plaque Assay*, pertumbuhan satu *plaque* dihitung sebagai satu fag host bakteri yang menular. Dalam hal ini dapat dipastikan tingginya suatu bakteri di suatu badan air dapat mengindikasikan keberadaan *bacteriophage*. Penelitian yang dilakukan Rajnovic *et al* (2019) menggunakan konsentrasi bakteri *E.coli* dalam kultur murni yang diinkubasi dengan fag *MS2* untuk diinfeksi menggunakan *magnetoelastic* (ME) biosensor dimana *E.coli* terdeteksi pada 10^4 CFU/mL dengan waktu pengujian 2 jam (Hussain *et al.*, 2021b). Vaaughn and Metcalf (1975) pertama kali melaporkan replikasi di perairan muara pada densitas dari 1 CFU sel inang *E.coli* dan 100 PFU *somatic coliphage* per mL (Jofre *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan Eiji Haramoto, dengan menggunakan metode deteksi *real-time* PCR (rt-PCR) melakukan pengujian terhadap virus RNA, NoVs GI dan GII, dan HuSaV diuji karena kelompok virus tersebut penyebab penting dari virus akut gastroenteritis di seluruh dunia. Adapun Total *coliform*, *E.coli* dan *F-specific coliphages* diuji sebagai indikator mikroorganisme.

Tabel 2. 7. Korelasi antara *Bacteriophage* dengan Bakteri *Total Coliform*, *E.coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella*

Peneliti (Tahun)	Parameter <i>Bacteriophage</i>	Host <i>Bacteria</i>	Tingkat Korelasi
Haramoto <i>et al.</i> , (2012)	Q β	<i>E.coli</i>	$P \leq 0.05$
Chen <i>et al</i> (2020)	Bp7	<i>E.coli</i> K12	$P \leq 0.01$
Setiyawan <i>et al</i> (2014)	Q β	<i>E.Coli</i>	$P \leq 0.05$
Yan The, <i>et al</i> (2020)	Sf6	<i>Shigella</i> <i>flexneri</i>	$P \leq 0.01$; $P \leq 0.0001$
Mai <i>et al</i> (2015)	ShigActive™	<i>Shigella sp</i>	$P \leq 0.05$; $P \leq 0.0001$

Bakteri *E.coli* merupakan bakteri yang paling banyak digunakan sebagai detektor keberadaan fag spesifik. *E.coli* yang digunakan untuk *somatic coliphages* antara lain *E.coli* ATCC 13706 (*Standard Methods procedure*), *nalidixic acid-resistant clones E.coli* CN13 ATCC 700609 (USEPA 1601 dan 1602 *methods*), *E.coli* CN13 lebih sering dirujuk sebagai WG5 ATCC 700078 (ISO 10705-2 *methods*). Sedangkan untuk *F-specific coliphages* host strain inang yang digunakan antara lain *E.coli* HS ATCC 700891 dan *Salmonella enterica serovar typhimurium* WG49 (NCTC 12484) (Jofre *et al.*, 2016). Dalam jurnal Jofre *et al.*, (2016) disebutkan banyak data tersedia pada percobaan persistensi yang dilakukan dengan model yang dikembangkan di laboratorium untuk *somatic coliphages* (ϕ X174, PDR1, T2, dan T7) dan *F-specific coliphages* (f2, MS2, Q β).

Metode deteksi bakteri mikrobiologi dan biokimia konvensional, seperti pengamatan mikroskopis, memerlukan prekulturasasi pada media selektif diikuti dengan analisis biokimia yang seringkali melelahkan, membutuhkan individu yang terampil dan memakan waktu yang berjam-jam hingga berhari-hari (Hussain *et al.*, 2021b). Saat ini, sudah terdapat banyak *tools* yang dapat digunakan dalam melakukan pengujian bakteriofag. Pendekatan imunologi dan molekuler seperti *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISAs) dan *Polymerase chain reaction* (PCR) merupakan metode yang sangat spesifik dan sensitif serta secara rutin digunakan dalam mendeteksi bakteri patogen (Hussain *et al.*, 2021b). Oleh sebab itu, bakteriofag yang memenuhi prasyarat dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengembangan yang hemat biaya, spesifik, cepat, sensitif dan andal (sensor dan *assay*) dalam mendeteksi bakteri patogen. Dalam penelitian yang lain, *E.coli* terdeteksi menggunakan ATP *bioluminescent* dalam sampel air dan makanan serta menunjukkan hasil yang lebih cepat dan efisien daripada *plate counting* konvensional yang digunakan untuk validasi (Hussain *et al.*, 2021a).

Bacteriophage merupakan *virus-specific bacterial* yang tidak berbahaya bagi manusia. Selain itu, sampel dapat disimpan di suhu 4°C selama 48 jam tanpa perubahan signifikan dalam jumlah *bacteriophage* infeksius dan sampel dengan volume kecil dapat menjaga densitas fag selama berbulan-bulan ketika disimpan pada suhu -20°C atau -80°C setelah penambahan 10% *glycerol* (Jofre *et al.*, 2016).

Penelitian sebelumnya terkait air permukaan telah menunjukkan korelasi antara virus patogen yang berbeda seperti *astrovirus*, *norovirus*, *rotavirus* dan *adenovirus*; *enterovirus*, *reovirus* *norovirus* dan *rotavirus* serta adenovirus dan *norovirus*. Dari ketiga penelitian tersebut juga melaporkan bahwa terdapat korelasi antara *human viruses* dengan *coliphages* (Jofre *et al.*, 2016). Penelitian yang dilakukan Kitajima *et al.* (2009) dengan mendeteksi GIV *norovirus* di air limbah dan air sungai di Jepang menggunakan *TaqMan-based real-time* RT-PCR diperoleh konsentrasi tertinggi dari limbah dan air sungai yakni 6.9×10^4 dan 1.5×10^4 *copies* per liter. Infeksi sel bakteri oleh bakteriofag berlangsung dalam beberapa tahap yaitu (i) adsorpsi partikel ke sel inang, (ii) ejsi dan penetrasi nukleat asam, (iii) sintesis makromolekul dan subunit, (iv) perakitan partikel matang dan (iv) lisis sel inang dan pelepasan (IAWPCR., (1991).

4.5 Analisis Parameter Fisika

Mikroorganisme memiliki waktu hidup yang singkat dan terbatas, sehingga mereka mempertahankan populasinya dengan cara menambah jumlah sel. Pertumbuhan suatu mikroba diperlukan suatu kondisi tertentu agar pertumbuhannya dapat optimal. Beberapa mikroba menunjukkan mampu bertahan hidup di habitat yang ekstrem, seperti hidup pada kondisi suhu dan salinitas yang sangat tinggi. Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan diantaranya faktor fisika, kimia dan biologi. Faktor fisika seperti suhu, DO, tekanan osmotik, pH, dan lain-lain. Faktor kimia antara lain senyawa racun atau senyawa kimia yang dapat berfungsi sebagai bahan makanan. Faktor biologi seperti terjadinya interaksi dengan mikroorganisme yang lain.

Data parameter fisika dalam penelitian ini diukur secara *in-situ* dengan mengukur debit, pH, suhu, TDS, EC dan ORP. Pada penelitian ini pengukuran dilakukan dari *site* 1 sampai *site* 6. Namun, pengukuran tidak dapat dilakukan secara maksimal dikarenakan adanya beberapa kendala serta lokasi yang tidak memungkinkan untuk dijangkau.

Berikut ini data parameter fisika Sungai Code berdasarkan *site* pengambilan sampel pada Tabel 4.6.

Gambar 4.6. Data Hasil Parameter Fisika

Waktu sampling antara jam 10:30 WIB sampai 17:00 WIB

Parameter	Nilai	Lokasi Sampling						
		Site 1	Site 2	Site 3a	Site 3b	Site 4	Site 5	Site 6
Debit (V) (m ³ /s)	Rerata	0.285	0.47	0.23	0.11	0.15	0.546	0.225
	Min - Max	0.285	0.47	0.05 – 0.41	0.08 – 0.14	0.11 – 0.18 8	0.546	0.225
	Rerata	7.65	7.64	8.31	8.32	7.94	7.9	8.1
pH	Min - Max	7.65	7.64	7.92 – 8.7	7.99 – 8.65	7.73 – 8.14	7.58 – 8.14	7.54 – 8.1
	Rerata	23.7	27.64	28.35	29.65	28.1	28.25	28.65
Suhu (°C)	Min - Max	23.7	27 – 28.3	26.8 – 30.0	29.3 – 30.0	26.9 – 29.3	28.1 – 28.4	28.2 – 29.1
	Rerata	100	125	151	142.5	170	175	189
TDS (ppm)	Min - Max	100	117 – 133	142 – 160	135 – 150	164 – 176	174 – 176	188 – 190
	Rerata	201	239.5	302	285	337.5	350.5	377
EC (µS/cm)	Min - Max	201	213 – 266	283 – 321	268 – 302	327 – 348	348 – 353	375 – 379
	Rerata	-95	-88	-90.5	-86.5	-89.5	-105	-90.5
ORP (mV)	Min - Max	-95	-84 – -92	-80 – -101	-73 – -100	-82 – -97	-103 – -107	-78 – -103

Debit air merupakan faktor penting yang mempengaruhi produksi air di suatu sumber air (Sutrisno, dkk., 2020). Dari hasil penelitian didapat debit air Sungai Code berkisar antara 0.113 m³/s hingga 0.546 m³/s. Rata-rata debit air dari *site* 1 hingga *site* 6 berturut-turut adalah 0.285 m³/s, 0.470 m³/s, 0.236 m³/s, 0.113 m³/s, 0.149 m³/s, 0.546 m³/s, 0.225 m³/s. Dari nilai tersebut diketahui bahwa debit air pada Sungai Code memiliki nilai yang *fluktuatif* (tidak tetap). Berdasarkan

Tabel 4.6 diatas diketahui debit tertinggi berada di *site* 5 (Jembatan Tungkak). Tingginya debit suatu aliran air dapat disebabkan oleh kedalaman, tinggi, luas dan elevasi sungai sehingga mempengaruhi kecepatan aliran air.

Derajat keasaman (pH) termasuk indikator yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroorganisme karena berkaitan dengan kondisi asam dan lingkungan yang menjadi tempat tinggal mikroorganisme tersebut. Berdasarkan PP No.22 Tahun 2021 tentang PPPLH, baku mutu air pH berada pada rentang 6-9. Diketahui nilai pH air Sungai Code dari hasil pengukuran yang dilakukan secara *in-situ* memiliki rata-rata pH untuk semua *site* nya diantara 7.6 – 8.3. Dimana nilai tersebut masih berada di rentang baku mutu. Nilai pH digunakan sebagai indikator awal penentu suatu badan air tercemar atau tidak (Hamidi *et al.*, 2021). Sehingga nilai pH termasuk sebagai salah satu faktor penting dalam suatu perairan. Hal tersebut dikarenakan sebagian besar biota air sangat sensitif terhadap perubahan nilai pH. Umumnya bakteri dapat tumbuh dengan baik pada pH netral (*neutrofilik*) yaitu berkisar antara 6,5 – 7,5. Pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme biasanya dapat dipengaruhi oleh konsentrasi ion hidrogen seperti pH pada media. Bakteri *Thiobacillus thiooxydans* dan *Thiobacillus ferrooxydans* dapat bertahan pada pH 1 dan hanya sebagian kecil bakteri yang mampu tumbuh pada pH 3 (Yang *et al.*, 2007).

Temperatur air sangat berpengaruh terhadap proses kimia dan biologi perairan. Setiap spesies bakteri memiliki toleransi yang berbeda terhadap kondisi suhu, tergantung jenis dan tingkat aklimatisasi dari bakteri tersebut. Beberapa bakteri dapat mengalami kematian pada kenaikan temperatur tertentu meskipun terdapat pula bakteri yang dapat hidup di temperatur yang tinggi. Hasil pengukuran suhu air Sungai Code dari *site* 1 sampai *site* 6 menunjukkan suhu air berkisar antara 23°C-29°C. Suhu tertinggi berada di *site* 3b dengan nilai 29.65°C. Tingginya suhu di suatu badan air dapat disebabkan oleh intensitas sinar matahari yang masuk ke badan air cukup tinggi. Semakin banyak intensitas radiasi sinar matahari terhadap badan air maka akan membuat suhu air sungai akan semakin tinggi (Marlina, dkk., 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Riris L (2016) terhadap parameter suhu di sungai Ciliwung menunjukkan rentang nilai berkisar

28-30°C. Suhu air sungai dapat menunjukkan rentang nilai yang berbeda dikarenakan faktor antropogen (aktivitas manusia) seperti pembuangan limbah ke sungai dan hilangnya pelindung badan air (Riris L et al, 2016).

Suhu juga merupakan salah satu kondisi lingkungan yang paling berpengaruh terhadap pertumbuhan fag. Pengaruh suhu terhadap pertumbuhan mikroorganisme yakni dapat mempengaruhi laju reaksi enzimatik dan kimia di dalam sel. Komponen sel pada mikroorganisme dapat mengalami kerusakan pada rentang suhu tertentu. Terdapat tiga tingkatan suhu yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme, antara lain suhu minimum yang merupakan batas terendah bagi suatu mikroba untuk tetap hidup, suhu optimum yaitu suhu optimal bagi suatu mikroba untuk melakukan pertumbuhan, dan suhu maksimum yaitu batas tertinggi bagi suatu mikroba dalam bertahan hidup.

Total Dissolved Suspended (TDS) adalah jumlah padatan yang terlarut di dalam sampel air termasuk mineral, garam, dan logam berat. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan, nilai TDS memiliki kandungan sebesar 100 mg/L hingga 189 mg/L. Bila dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan (Hamidi et al., 2021) di Sungai Code menunjukkan kandungan TDS sebesar 169 mg/L hingga 298 mg/L. Nilai TDS dapat membantu dalam menunjukkan jika air yang diuji layak untuk dikonsumsi atau tidak. Kenaikan nilai TDS dapat terjadi karena pengaruh hujan sehingga menaikkan laju alir air sungai dan menyebabkan air sungai lebih keruh. Selain itu, TDS yang tinggi akan mengakibatkan kandungan DO dalam air menurun. Berdasarkan peraturan yang berlaku, baku mutu TDS pada kelas 2 yaitu 1000 mg/L sehingga rentang nilai yang diperoleh dari penelitian ini masih berada dibawah angka baku mutu.

Pengukuran EC bertujuan untuk mengetahui seberapa besar air dapat menghantarkan listrik (Kirana et al., 2019). *Electrical Conductivity* (EC) merupakan suatu upaya dari bahan tertentu dalam mengalirkan arus listrik. Hasil dari nilai EC pada sampel air Sungai Code dari *site* 1 hingga *site* 6 menunjukkan hasil pengukuran dengan rentang nilai berturut-turut 201 – 377 mS/cm dengan nilai EC tertinggi berada di *site* 6 dengan nilai 377 mS/cm. Baku mutu EC

berdasarkan (Kirana *et al.*, 2019) yaitu 200 mS/cm. Tingginya nilai EC dapat mengindikasikan kondisi sungai yang tercemar.

Oxidation Reduction Potential (ORP) merupakan parameter fisika yang penting untuk dilakukan. Pengujian ORP dapat menentukan kondisi kontaminan air terhadap kemampuannya dalam mereduksi atau mengoksidasi suatu zat. Nilai ORP yang rendah dapat mengindikasikan bahwa terdapat banyak organisme atau kontaminan yang mengkonsumsi oksigen larut dalam air. Dari hasil penelitian didapat ORP air Sungai Code secara berturut dari *site* 1 hingga *site* 6 adalah -95 mV, -88 mV, -90.5 mV, -86.5 mV, -89.5 mV, -105 mV, -90.5 mV. Dalam studi yang dilakukan Song *et al.*, (2011), menyebutkan pH dan ORP sebagai parameter lingkungan yang utama. Bakteri sangat rentan terhadap perubahan ORP dari media pertumbuhan mereka, setiap spesies memiliki rentang ORP untuk tumbuh atau beradaptasi (Kimbrough *et al.*, 2006).

BAB V SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan data yang telah didapat, dapat disimpulkan bahwa:

1. Berdasarkan parameter mikrobiologi yang diuji, didapatkan hasil kadar konsentrasi maksimum dari indikator bakteri Total *Coliform* berada di *site* 3b dengan nilai 5×10^3 CFU/mL, *Escherichia coli* di *site* 5 dengan nilai 7.2×10^3 CFU/mL. Dari hasil yang diperoleh, nilai konsentrasi Total *Coliform* di *site* 3b dan *E.coli* di *site* 5 telah melebihi baku mutu sungai Kelas II berdasarkan Peraturan Pemerintah No.22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup dimana nilai yang ditentukan yaitu Total *Coliform* 5000 MPN/100 mL dan *Fecal Coliform* 1000 MPN/100 mL.
2. Sedangkan kadar konsentrasi *Salmonella typhimurium* yang diperoleh adalah 3×10^2 CFU/mL dan *Shigella, sp.* 0 CFU/mL. Dari hasil yang didapatkan bahwa kadar konsentrasi tersebut masih memenuhi baku mutu Kelas II PP No.22 Tahun 2021.
3. Namun, dengan terdeteksinya bakteri Total *Coliform*, *E.coli*, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.* di suatu perairan dapat menjadi indikator bahwa kondisi perairan tersebut dari segi kualitas sudah menurun dan dapat mengakibatkan penyakit saluran pencernaan apabila air tersebut digunakan untuk keperluan masyarakat sekitarnya. Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No.32 Tahun 2017 juga dijelaskan Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan untuk Media Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi, kadar maksimum untuk Total *Coliform* 0 CFU/100 mL dan *E.coli* 50 CFU/100 mL
4. Hasil pengujian terhadap indikator *bacteriophage* dalam penelitian ini menunjukkan konsentrasi *bacteriophage* 0 PFU/mL. Dalam penelitian ini plak *bacteriophage* yang dihasilkan adalah negatif. Tidak terdeteksinya *bacteriophage* dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor

seperti temperatur, plak yang terbentuk berukuran sangat kecil atau inaktivasi dari virus yang diuji.

5. Terdapat hubungan antara *bacteriophage* dan indikator mikroorganisme bakteri. Hal tersebut karena *bacteriophage* menggunakan sel bakteri untuk bereplikasi dan umumnya sangat spesifik untuk strain tertentu dalam spesies bakteri tunggal. Penelitian terdahulu menunjukkan tingkat korelasi antara *bacteriophage* dan host inang bakteri yakni $P \leq 0.05$ sehingga nilai tersebut dianggap signifikan terhadap hubungan antara indikator mikroorganisme bakteri dengan indikator *bacteriophage*.

5.2 Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa hal yang dapat menjadi bahan pertimbangan untuk penelitian selanjutnya, yaitu:

1. Penelitian perlu dilakukan pengujian lanjutan dalam skala yang lebih akurat untuk mengetahui metoda yang tepat dalam mengetahui potensi *bacteriophage* sebagai bioindikator dalam pemantauan kualitas air sungai.
2. Penggunaan *bacteriophage* untuk semua aplikasi harus didukung dengan pemahaman yang rinci tentang *bacteriophage* tersebut serta diperlukan uji coba yang efektif dari teknologi yang digunakan dengan standar peraturan yang berlaku saat ini.
3. Melakukan kajian terhadap spesies bakteri dalam satu genus atau yang mendekati karakteristik *host* inang spesifik *bacteriophage*.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

DAFTAR PUSTAKA

- Anisafitri, J., Khairuddin, K. dan Rasmi, D.A.C. (2020a). Analisis Total Bakteri Coliform Sebagai Indikator Pencemaran Air Pada Sungai Unus Lombok. *Jurnal Pijar Mipa*, 15(3), pp. 266–272. Available at: <https://doi.org/10.29303/jpm.v15i3.1622>.
- Anisafitri, J., Khairuddin, K. dan Rasmi, D.A.C. (2020b). Analisis Total Bakteri Coliform Sebagai Indikator Pencemaran Air Pada Sungai Unus Lombok', *Jurnal Pijar Mipa*, 15(3), pp. 266–272. Available at: <https://doi.org/10.29303/jpm.v15i3.1622>.
- Batinovic, S. *et al.* (2019). *Bacteriophages in natural and artificial environments*. *Pathogens*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/pathogens8030100>.
- Chen, P. *et al.* (2020). *LamB, OmpC, and the Core Lipopolysaccharide of Escherichia coli K-12 Function as Receptors of Bacteriophage Bp7*. Available at: <https://doi.org/10.1128/JVI>.
- Deshanda. *et al.* (2018). Fag Salmonella Asal Limbah Pasar Ikan dan Air Sungai di Sekitar Kampus Universitas Bangka Belitung. *Ekotania: Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. 03(2):45-49. [article.php \(kemdikbud.go.id\)](http://article.php(kemdikbud.go.id))
- Domingo-Calap, P., Georgel, P. dan Bahram, S. (2016). *Back to the future: Bacteriophages as promising therapeutic tools*. *HLA*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 133–140. Available at: <https://doi.org/10.1111/tan.12742>.

- Fongaro, G. *et al.* (2015). *Enteric Viruses As Contaminants and Bioindicators in Environmental Samples: a Review*. *VIRUS Reviews & Research*, 20(2). Available at: <https://doi.org/10.17525/vrrjournal.v20i2.255>.
- Hamidi D. *et al.* (2021) Analisis Status Mutu Air Sungai Code Menggunakan Metode STORET. *Skripsi*. Teknik Lingkungan.
- Hamidullah, et al., (2019) *Survival of Salmonella typhi and Shigella flexneri in Different Water Samples and at Different Temperatures*, *Turkish Journal of Medical Sciences*. Available at: <https://journals.tubitak.gov.tr/medical:https://journals.tubitak.gov.tr/medical/vol38/iss4/4>.
- Haramoto, E. *et al.* (2012). *Occurrence of Viruses and Protozoa in Drinking Water Sources of Japan and Their Relationship to Indicator Microorganisms*. *Food and Environmental Virology*, 4(3), pp. 93–101. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12560-012-9082-0>.
- Hossain, M.T., Yokono, T. dan Kashiwagi, A. (2020). *The single-stranded RNA bacteriophage Q β adapts rapidly to high temperatures: An evolution experiment*. *Viruses*, 12(6). Available at: <https://doi.org/10.3390/v12060638>.
- Husna, H. *et al.* (2019). Identifikasi *Salmonella*, *Shigella* dan *E.coli* pada Sie Balu Bahan Pangan Olahan Asal Daging. *Processing Food of Meat*. Available at: <http://e-journal.unair.ac.id/JPHRECODE>.
- Hussain, W. *et al.* (2021a). *Bacteriophage-based advanced bacterial detection: Concept, mechanisms, and applications*. *Biosensors and Bioelectronics*. Elsevier Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.112973>.

- Hussain, W. *et al.* (2021b). *Bacteriophage-based advanced bacterial detection: Concept, mechanisms, and applications*. *Biosensors and Bioelectronics*. Elsevier Ltd. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.112973>.
- IAWRC. (1991). *Bacteriophage As Model Viruses in Water Quality Control*. *Water Research*, 25(5), 529–545. doi:10.1016/0043-1354(91)90126-b
- Ibrahim, Y. *et al.* (2021). *Detection and removal of waterborne enteric viruses from wastewater: A comprehensive review*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), pp. 1–25. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105613>.
- Iswadi, I. (2018). Fage Litik Spesifik Escherichia coli pada Limbah Cair Pasar Tradisional di Kota Banda Aceh. *BIOTIK: Jurnal Ilmiah Biologi Teknologi dan Kependidikan*, 4(2), p. 95. Available at: <https://doi.org/10.22373/biotik.v4i2.1075>.
- Jatmiko, Y.D., Purwanto, A.P. dan Ardyati, T. (2018). Uji Aktivitas Bakteriofage Litik dari Limbah Rumah Tangga Terhadap Salmonella Typhi. *Jurnal Biodjati*, 3(2), pp. 36–49. Available at: <https://doi.org/10.15575/biodjati.v3i2.3471>.
- Ji, M. *et al.* (2021). *Bacteriophages in water pollution control: Advantages and limitations*. *Frontiers of Environmental Science and Engineering*, 15(5). Available at: <https://doi.org/10.1007/s11783-020-1378-y>.
- Jofre, J. *et al.* (2016). *Coliphages as model organisms in the characterization and management of water resources*. *Water (Switzerland)*. MDPI AG. Available at: <https://doi.org/10.3390/w8050199>.

- Jończyk, E. *et al.* (2011). *The influence of external factors on bacteriophages-review. Folia Microbiologica*. Kluwer Academic Publishers, pp. 191–200. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12223-011-0039-8>.
- Kimbrough, D.E. *et al.* (2006). *The effect of electrolysis and oxidation-reduction potential on microbial survival, growth, and disinfection. International Journal of Environment and Pollution*, 27(1–3), pp. 211–221. Available at: <https://doi.org/10.1504/ijep.2006.010464>.
- Kirana, K.H. *et al.* (2019). Identifikasi Kualitas Air Sungai Citrarum Hulu Melalui Analisa Parameter Hidrologi dan Kandungan Logam Berat (Studi Kasus: Sungai Citarum Sektor 7). *Wahana Fisika*, 4(2), pp. 120–128. Available at: <https://doi.org/10.17509/wafi.v4i2.21907>.
- Kitajima, M. *et al.* (2009). *Detection of genogroup IV norovirus in wastewater and river water in Japan. Letters in Applied Microbiology*. Blackwell Publishing Ltd, pp. 655–658. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02718.x>.
- Kumar, P., Meghvansi, M.K. dan Kamboj, D. V. (2021). *Isolation, phenotypic characterization and comparative genomic analysis of 2019SD1, a polyvalent enterobacteria phage. Scientific Reports*, 11(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01419-8>.
- Kuzmanovic, D.A. *et al.* (2003). *Bacteriophage MS2: Molecular weight and spatial distribution of the protein and RNA components by small-angle neutron scattering and virus counting. Structure*, 11(11), pp. 1339–1348. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.str.2003.09.021>.
- Lázaro, E. *et al.* (2018). *Evolutionary adaptation of an RNA bacteriophage to the simultaneous increase in the within-host and extracellular temperatures.*

Scientific Reports, 8(1). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26443-z>.

Lupiyanto, R. and Wijaya, D. (2010). Pengelolaan Kawasan Sungai Code Berbasis Masyarakat. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*, 2(1), pp. 7–20.

Mai, V. *et al.* (2015). *Bacteriophage administration significantly reduces shigella colonization and shedding by shigella-challenged mice without deleterious side effects and distortions in the gut microbiota*. *Bacteriophage*, 5(4). Available at: <https://doi.org/10.1080/21597081.2015.1088124>.

Mara, D.D. dan Horan, N.J. (2003) *The handbook of water and wastewater microbiology*. Academic.

Marlina, N., Hudori, dan Hafidh, R. (2017). Pengaruh Kekasaran Saluran dan Suhu Air Sungai Pada Parameter Kualitas Air COD, TSS di Sungai Winongo Menggunakan Software QUAL2Kw. *Jurnal Sains dan Teknologi Lingkungan*.

Monk, A.B. *et al.* (2010). Bacteriophage applications: Where are we now?. *Letters in Applied Microbiology*, pp. 363–369. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02916.x>.

Pelzek, A.J. *et al.* (2013). *Isolation, Culture, and Characterization of Bacteriophages*. *Current Protocols in Essential Laboratory Techniques*, 2013(SUPPL.7). Available at: <https://doi.org/10.1002/9780470089941.et0404s07>.

Peraturan Pemerintah RI (2021). Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup. PP No. 22 Tahun 2021. [PP No. 22 Tahun 2021 \(bpk.go.id\)](http://www.bpk.go.id)

Peraturan Menteri Kesehatan RI (2017). Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan dan Persyaratan Kesehatan Air Untuk Keperluan Higiene Sanitasi, Kolam Renang, Solus Per Aqua, dan Pemandian Umum. PERMENKES No. 32 Tahun 2017. [Permenkes No. 32 Tahun 2017 \(bpk.go.id\)](http://permenkes.bpk.go.id)

Percival, S.L. dan Williams, D.W. (2013). Shigella. in *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks: Second Edition*. Elsevier Ltd., pp. 223–236. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00011-1>.

Pranowo, A., Siti, D. dan Hayati, N. (2015) *PEMANTAUAN KUALITAS AIR*.

Rodríguez, R.A. *et al.* (2012). *Comparison of methods for the detection of coliphages in recreational water at two California, United States beaches. Journal of Virological Methods*, 181(1), pp. 73–79. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2012.01.013>.

Rogovski, P. *et al.* (2021a). *Uses of Bacteriophages as Bacterial Control Tools and Environmental Safety Indicators. Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.793135>.

Rogovski, P. *et al.* (2021b). *Uses of Bacteriophages as Bacterial Control Tools and Environmental Safety Indicators. Frontiers in Microbiology*. Frontiers Media S.A. Available at: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.793135>.

Setiayawan, A.S. *et al.* (2014) ‘Characteristics of Fecal Indicators in Channels of Johkasou Systems’, *Journal of Water and Environment Technology*, 12(6), pp. 469–480. Available at: <https://doi.org/10.2965/jwet.2014.469>.

- Setyowati, P. (2021). Gambaran Pengelolaan Sanitasi Lingkungan Di Sungai Code Yogyakarta. *UNM Environmental Journals*, 4, pp. 87–94.
- Skov Rasmussen, P. dan Rohde Knudsen, C. (2022). A Cell-free Infection System to Study Translation, Replication and Phage-particle Production during Infection of *E. coli* By Bacteriophage Q β . *Journal of Biotechnology and Biomedicine*, 05(02). Available at: <https://doi.org/10.26502/jbb.2642-1280051>.
- Song, J. *et al.* (2011). Effects of pH and ORP on microbial ecology and kinetics for hydrogen production in continuously dark fermentation. *Bioresource Technology*, 102(23), pp. 10875–10880. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.09.024>.
- Sutrisno, A.J., Kaswanto and Hadi Susilo (2020). Analisis Prediksi dan Hubungan antara Debit Air dan Curah Hujan pada Sungai Ciliwung di Kota Bogor. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 10(1), pp. 25–33. Available at: <https://doi.org/10.29244/jpsl.10.1.25-33>.
- UNICEF. (2023). *Triple Threat “How disease, climate risk, and unsafe water, sanitation and hygiene create a deadly combination for children”*. Division of Global Communication and Advocacy. [triple-threat-wash-EN.pdf \(unicefusa.org\)](https://www.unicefusa.org/triple-threat-wash-EN.pdf)
- Widyaningsih, W., Supriharyono, S. and Widyorini, N. (2016). Analisis Total Bakteri Coliform Di Perairan Muara Kali Wisu Jepara. *Management of Aquatic Resources Journal (MAQUARES)*, 5(3), pp. 157–164. Available at: <https://doi.org/10.14710/marj.v5i3.14403>.

Yan Teh, M. *et al.* (2020). Influence of Shigella flexneri 2a O Antigen Acetylation on Its Bacteriophage Sf6 Receptor Activity and Bacterial Interaction with Human Cells. *Journal of Bacteriology*, 202(24). Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.00363-20>.

Yang, F.-F. *et al.* (2007) *JKS vol 1 2007 - 5maret 2011*. Available at: <https://www.researchgate.net/publication/331429639>.

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

LAMPIRAN

Lampiran 1. Peralatan Penelitian

Nama Peralatan	Jumlah	Satuan
Sampling Air Sungai Code		
Botol untuk sampel	7	Buah
Coolbox	1	Buah
Ice pack	2-3	Buah
Water Quality Tester (OC, ORP, TDS)	1	Buah
Ember	1	Buah
Gayung	1	Buah
Meteran 50m	1	Buah
Aquades	2-3	Buah
pH meter	1	Buah
DO meter	1	Buah
Current meter	1	Buah
Peralatan Pengujian Laboratorium		
Tabung reaksi	48	Buah
Erlenmeyer 50 mL	2-4	Buah
Erlenmeyer 250 mL	2	Buah
Erlenmeyer 500 mL	2	Buah
Pipet volume	1	Buah
Gelas beaker	1	Buah
Cawan petri	~	Buah
Stirrer bar	2-4	Buah
<i>Magnetic stir plate</i>		Buah
<i>Vortex mixer</i>		Buah
Timbangan digital	1	Buah
Sendok sugu	1	Buah
LAF		Buah
Api bunsen	1	Buah
<i>Micropipette test tube</i> ukuran 10-200 μ L,	~	Buah

100-1000 μ L		
<i>Sterile dilution tubes</i> ukuran 5 mL – 15 mL	~	Buah
<i>Water bath</i>		Buah
<i>Autoclave</i>		Buah
Inkubator 35-37°C		Buah

*Pengukuran DO, pH, dan lainnya dapat menggunakan *Water Quality Meters* HORIBA

Lampiran 2. Hasil Pengujian Bakteri *E.coli*

Bakteri	Kode Site	Jumlah Koloni (rata-rata)		E.Coli (CFU/mL)		St.Deviasi	
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²
E.Coli	Site 1	5	5	50	500	17.3	305.5
	Site 2	28	18	280	1800	72.3	404.1
	Site 3a	26	8	260	800	70.7	353.6
	Site 3b	23	14	230	1400	120.2	212.1
	Site 4	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 5	174	72	1740	7200	198.0	1131.4
	Site 6	0	0	0	0	0.0	0.0

Lampiran 3. Hasil Pengujian Bakteri *Total Coliform*

Bakteri	Kode Site	Jumlah Koloni (rata-rata)		Total Coliform		St.Deviasi	
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²
Total Coliform	Site 1	13	6	130	600	47.3	200.0
	Site 2	60	4	600	400	347.0	750.6
	Site 3a	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 3b	30	48	300	4800	424.3	565.7
	Site 4	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 5	8	50	80	5000	113.1	1979.9
	Site 6	0	0	0	0	0.0	0.0

Lampiran 4. Hasil Pengujian Bakteri *Salmonella typhimurium*

Bakteri	Kode Site	Jumlah Koloni (rata-rata)		Salmonella typhimurium		St.Deviasi	
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻¹	10 ⁻²
Salmonella typhimurium	Site 1	3	0	30	0	5.8	0.0
	Site 2	5	3	50	300	37.9	115.5
	Site 3a	3	0	30	0	20.8	0.0
	Site 3b	4	0	40	0	7.1	0.0
	Site 4	0	2	0	200	0.0	0.0
	Site 5	0	3	0	300	0.0	0.0
	Site 6	8	3	80	300	106.1	141.4

Lampiran 5. Hasil Pengujian Bakteri *Shigella, sp.*

Bakteri	Kode Site	Jumlah Koloni (rata-rata)		Shigella, sp		St.Deviasi	
		10 ¹	10 ²	10 ¹	10 ²	10 ¹	10 ²
Shigella, sp	Site 1	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 2	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 3a	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 3b	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 4	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 5	0	0	0	0	0.0	0.0
	Site 6	0	0	0	0	0.0	0.0

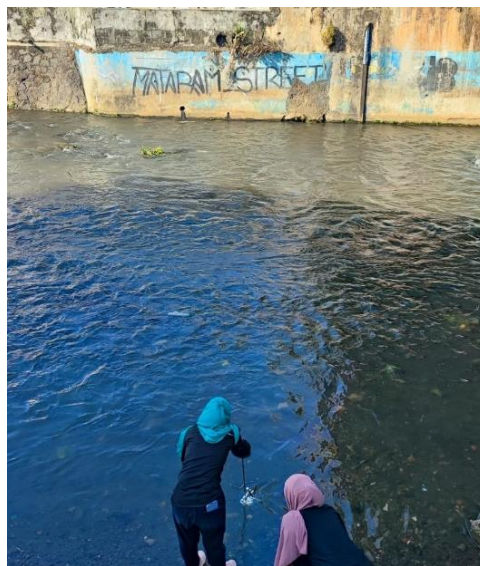
Lampiran 6. Pengujian *Bacteriophage MS2* dan *Qβ* di Laboratorium



Lampiran 7. Kultur Media Bakteri *Escherichia coli*, Total Coliform, *Salmonella typhimurium* dan *Shigella, sp.*



Lampiran 8. Pengambilan Sampel Air Sungai Code



Lampiran 9. Pengukuran Debit Air Sungai menggunakan *Current Meter*



Lampiran 10. Data Kualitas Air Sungai Kota Yogyakarta 2022

Tabel-29. Kualitas Air Sungai Kota : Yogyakarta Tahun : 2022

No.	Nama Sungai	Lokasi	TSS Partikel	Limpas	Rejur	Waktu sampling (jam/detik/menit)	Temp. (°C)	pH	DHL (mg/L)	TDS (mg/L)	TSS (mg/L)	DO (mg/L)	BOD (mg/L)	COD (mg/L)	NO ₃ (mg/L)	NO ₂ (mg/L)	AM ₄ (mg/L)	Klorin bebas (mg/L)	T-P (mg/L)	Minyak dan Lemak (mg/L)	Detergen (mg/L)	Fecal coliform (MPN/100 ml)	Total coliform (MPN/100 ml)	Sulfida (mg/L)	
Buku Mutu PP No. 22 Tahun 2021 (Maks 2)																									
(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)	(S)
1	Sungai Caka	Kec. Karangayu, Kec. Tegayepi	Padangan	-1,772381	110,730177	10/06/2022	27,2	6,36	107	144	28,6	0,2	2,8	12,9	0,02	1,1	-	0,01*	-	-	-	-	120 x 10 ³ **	220 x 10 ³ **	0,02
2	Sungai Caka	Kec. Caturtunggal, Kec. Jati	Gondokayu	-1,782786	110,730177	10/06/2022	28,2	6,53	293	148	23,4	0,2	1	11	0,02	1,3	-	0,01*	-	-	-	-	130 x 10 ³ **	620 x 10 ³ **	0,02
3	Sungai Caka	Kec. Pesisir Selatan, Kec. Gondomanan	Bayan	-1,801389	110,731276	10/06/2022	28,2	6,52	313	160	19	7,4	0,6	15,2	0,01	1,3	-	0,01*	-	-	-	-	350 x 10 ³ **	630 x 10 ³ **	0,02
4	Sungai Caka	Kec. Kepanjen, Kec. Mergangsan	Tunggal	-1,814408	110,734872	10/06/2022	30,2	6,87	307	180	17,8	0,2	1	14,8	0,01*	1,8	-	0,01*	-	-	-	-	170 x 10 ³ **	540 x 10 ³ **	0,02
5	Sungai Caka	Kec. Sempor, Kec. Umbulharjo	Wimanan	-1,821217	110,737009	10/06/2022	29,2	6,93	372	187	1,6	0,6	0,5	21	0,04	1,8	-	0,01*	-	-	-	-	130 x 10 ³ **	920 x 10 ³ **	0,02
6	Sungai Gajahmungkur	Kec. Ploso, Kec. Umbulharjo	Santo Thomas	-1,798802	110,731276	20/06/2022	26,2	6,37	280	144	10	0,2	0,1	19,4	0,02	2,0	-	0,01*	-	-	-	-	240 x 10 ³ **	620 x 10 ³ **	0,01
7	Sungai Gajahmungkur	Kec. Ploso, Kec. Umbulharjo	Bakajo	-1,793347	110,730276	20/06/2022	27,2	6,52	296	148	7	0,4	1,3	19,7	0,02	2,6	-	0,01*	-	-	-	-	70 x 10 ³ **	110 x 10 ³ **	0,02
8	Sungai Gajahmungkur	Kec. Ploso, Kec. Umbulharjo	Gondokayu	-1,812402	110,737009	20/06/2022	27,2	6,55	297	154	4,8	0,2	1,2	21,9	0,02	2,1	-	0,1*	-	-	-	-	240 x 10 ³ **	280 x 10 ³ **	0,02
9	Sungai Gajahmungkur	Kec. Ploso, Kec. Umbulharjo	Lugak	-1,810111	110,732881	20/06/2022	28,2	6,48	317	159	7,6	0,2	0,7	19,1	0,02*	2	-	0,01*	-	-	-	-	110 x 10 ³ **	210 x 10 ³ **	0,02
10	Sungai Gajahmungkur	Kec. Ploso, Kec. Matangale	Tagal Genta	-1,820424	110,732905	20/06/2022	28,2	6,53	328	164	1,5	0,4	0,9	14,6	0,02	2,7	-	0,01*	-	-	-	-	40 x 10 ³ **	140 x 10 ³ **	0,02
11	Sungai Wirogo	Kec. Bani, Kec. Tegayepi	Bani	-1,772242	110,732881	20/06/2022	28,2	6,36	336	168	12,8	0,2	0,4	12,7	0,02	1,8	-	0,01*	-	-	-	-	70 x 10 ³ **	17 x 10 ³ **	0,02
12	Sungai Wirogo	Kec. Tegayepi, Kec. Tegayepi	Peta	-1,798818	110,730177	20/06/2022	28,2	6,56	252	161	0,4	0,2	1	17,2	0,02*	2,2	-	0,01*	-	-	-	-	24 x 10 ³ **	280 x 10 ³ **	0,02
13	Sungai Wirogo	Kec. Pakuncen, Kec. Wirogo	Genangan	-1,810160	110,734995	20/06/2022	29,2	6,47	360	192	0,4	0,2	1,1	23,9	0,04	2,5	-	0,01*	-	-	-	-	350 x 10 ³ **	350 x 10 ³ **	0,02
14	Sungai Wirogo	Kec. Pakuncen, Kec. Ngablak	Taman Sari	-1,808094	110,732674	20/06/2022	28,2	6,54	373	188	7,4	0,2	1,3	19,8	0,02	2,6	-	0,01*	-	-	-	-	920 x 10 ³ **	920 x 10 ³ **	0,02
15	Sungai Wirogo	Kec. Gedongtiro, Kec. Martingani	Pegantana	-1,811475	110,731276	20/06/2022	28,2	6,75	404,3	203	1,3	0,6	1	14,5	0,02	2,7	-	0,01*	-	-	-	-	540 x 10 ³ **	920 x 10 ³ **	0,02
16	Sungai Parunggal	Kec. Kiblat, Kec. Gondokusuman	Kromog	-1,790527	110,730983	27/06/2022	28,2	6,88	260	130	15,2	4*	0,3*	20,9	0,08	1,6	-	0,01*	-	-	-	-	110 x 10 ³ **	70 x 10 ³ **	0,03
17	Sungai Parunggal	Kec. Banteng, Kec. Gondokusuman	Mangkukuman	-1,790446	110,730983	27/06/2022	29,2	6,24	360	181	2	1,9*	20,2*	20,8	0,24	3,2	-	0,01*	-	-	-	-	140 x 10 ³ **	540 x 10 ³ **	0,02
18	Sungai Parunggal	Kec. Semaki, Kec. Umbulharjo	Kusumajaya	-1,803039	110,730177	27/06/2022	29,2	6,45	339	174	1,8	0,9*	20,7*	17,7	0,12	2,8	-	0,01*	-	-	-	-	130 x 10 ³ **	130 x 10 ³ **	0,02
19	Sungai Parunggal	Kec. Ploso, Kec. Umbulharjo	Panorik Susana	-1,810074	110,730986	27/06/2022	28,2	6,53	302,3	162	1,2	4,7*	22,9*	17,4	0,08	2,3	-	0,01*	-	-	-	-	40 x 10 ³ **	40 x 10 ³ **	0,02
20	Sungai Caka	Kec. Karangayu, Kec. Tegayepi	Padangan	-1,772381	110,730177	02/06/2022	28,2	6,42	336	172	14,6	0,2	1,5	14,4	0,02	1,9	-	0,1*	-	-	-	-	70 x 10 ³ **	70 x 10 ³ **	0,02

Lampiran 11. Baku Mutu Air Sungai Berdasarkan PP No.22 Tahun 2021

No.	Parameter	Unit	Kelas I	Kelas II	Kelas III	Kelas IV
1	Temperatur	°C	-	-	-	-
2	Padatan terlarut total (TDS)	mg/L	1.000	1.000	1.000	2.000
3	Derajat keasaman (pH)		6-9	6-9	6-9	6-9
4	Fecal Coliform	MPN/100 mL	100	1.000	2.000	2.000
5	Total Coliform	MPN/100 mL	1.000	5.000	10.000	10.000

Lampiran 12. Parameter Biologi dalam Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan No. 32 Tahun 2017

Tabel 2 berisi daftar parameter wajib untuk parameter biologi yang harus diperiksa untuk keperluan higiene sanitasi yang meliputi *total coliform* dan *escherichia coli* dengan satuan/unit *colony forming unit* dalam 100 ml sampel air.

-11-

Tabel 2. Parameter Biologi dalam Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan untuk Media Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi

No.	Parameter Wajib	Unit	Standar Baku Mutu (kadar maksimum)
1.	Total coliform	CFU/100ml	50
2.	E. coli	CFU/100ml	0

“Halaman ini sengaja dikosongkan”

RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir pada 20 Desember 2000 di Pulau Bunyu, Kalimantan Utara. Penulis merupakan anak ketiga dari empat bersaudara dari pasangan Bapak Reinhard dan Ibu Nurmiah. Penulis menempuh pendidikan di Sekolah Dasar (SD) Negeri 2 Bunyu pada tahun 2006 sampai 2012, lalu melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 5 Tarakan pada tahun 2012 sampai 2015, dan melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas (SMA) Swasta Hang Tuah Tarakan pada tahun 2015 sampai 2018.

Pada tahun 2019 penulis melanjutkan pendidikan ke Perguruan Tinggi di Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia. Selama menjadi mahasiswa, penulis mengikuti beberapa kegiatan kampus seperti panitia LILIN (Lintas Lingkungan) pada tahun 2020. Pada organisasi kampus penulis ikut berperan aktif dalam Lembaga Dakwah Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan (LDF Al-Mustanir) selama dua periode sebagai Bendahara Departemen Kewirausahaan. Penulis juga telah melaksanakan Kerja Praktik sebagai syarat akademik pada bulan Maret 2022 di Divisi *Environmental, Compliance and Certification* (ECC) pada PT Musi Hutan Persada (PT MHP), Palembang dengan judul Evaluasi Penerapan Sistem Manajemen Lingkungan (SML) ISO 14001:2015 di PT MHP. Kemudian hingga tahap terakhir yaitu Tugas Akhir atau Skripsi dengan judul Deteksi Indikator Mikrobiologi Lingkungan (*Bacteriophage*, *Total Coliform*, *E.coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella*, *sp.*) Pada Air Sungai Code sebagai syarat akademik di Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik Sipil dan Perencanaan, Universitas Islam Indonesia.