

**DAYA HIDUP *Helicobacter pylori*
PADA AIR KRAN (PDAM) YANG DITAMBAH
UREA, AIR LIMBAH DOMESTIK, DAN
AIR SUMUR**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK

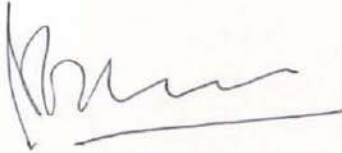


**MOELIARTA ROEKIANDARI
NIM : 099612234-M**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
1999**

TESIS INI
TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 26 Februari 1999

Pembimbing Utama



Prof. Atasiati Idajadi, dr., SpMK
NIP 130 189 851

Pembimbing



Dr. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., SpMK
NIP 130 676 011



Mengetahui :
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Soetjipto, dr., MS., PhD
NIP 130 687 606

Daftar Nama Dosen Penguji

Ujian Tesis pada 26 Februari 1999 :

Ketua Tim Penguji : **Cholil Munif, dr., MS**

Anggota :

- 1. Dr. Amirudin Pawitra, drs., Apt.**
- 2. Samsul Islam, dr., MS., SpMK**
- 3. DR. Soegeng Soekamto, dr., MSc., DSPA**
- 4. DR. Eddy Bagus Wasito, dr., MS., SpMK**
- 5. Prof. Atasiati Idajadi, dr., SpMK**

UCAPAN TERIMAKASIH

Puji syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT, atas karunia dan rahmat yang dilimpahkan kepada penulis, sehingga tesis dengan judul **“Uji Daya Hidup *Helicobacter pylori* Pada Air Kran (PDAM) + Urea, Air Limbah Domestik Dan Air Sumur”** dapat diselesaikan.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada ;

Prof. Dr. H. Soedijono, dr, selaku direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga, atas kesempatan belajar di Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

dr. Soetjipto , PhD, selaku Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar dan prof. Juliati Hood Assegaf, dr., DSPA., FIAC, selaku mantan Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar.

Prof. Atasiati Idajadi, dr., SpMK, dan DR. Eddy Bagus Wasito., MS., SpMK, selaku pembimbing atas semua bantuannya.

Prof. Soewignjo Soemohardjo, DSPD, atas kesempatan latihan isolasi bakteri di Unit Riset Biomedik, Mataram.

dr. Samsul Islam, MS., SpMK, DR. Amirudin Pawitra, Drs., Apt. DR. Soegeng Soekamto, dr., MSc., DSPA, dan dr. Cholil Munif.,MS, atas saran, pemikiran dan bantuannya.

Mas Wardi, selaku analis yang banyak membantu secara teknis proses penanganan bakteri.

Serta semua dosen, karyawan dan teman-teman yang tidak bisa disebut satu persatu atas kerjasamanya selama ini.

Akhirnya kepada mama tercinta, terimakasih atas do'a, dorongan, dan pemikirannya.

Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan, demi sempurnanya tesis ini.

Penulis

ABSTRACT

Key Words : Helicobacter pylori, Water and Survival

During the past decade, Helicobacter pylori has become recognized as one of the most common human pathogen, causing of chronic gastritis, peptic ulcer, untill gastric cancer. Helicobacter pylori was rediscovered by Warren and Marshall in 1983. This Gram negative bacteria, was spiral shaped in neutral to slightly alkaline environment with pH in the range of 7 to 8, at temperature 37 ° C , and grows only in microaerophilic condition. Environmental reservoirs (contaminated water) may exist the transmission of Helicobacter pylori infection. The transmission of Helicobacter pylori infection is thought to be fecal oral or oral oral. But the real transmission of Helicobacter pylori is still in question.

The aims of this study is to know how long Helicobacter pylori survive in aquatic environments with water variables consist of tap water plus urea, domestic waste water, and well water during 12 days of observation.

The research methods was true experimental which "Post Test Only Control Group Design". Data was analyzed by using regression analysis, varian (uni-multivariate) analyze with Scheffe test and F test. Analysis of water was chemicaly done : pH, Nitrite (NO₂), Nitrate (NO₃), Ammonium (NH₄), Sodium (Na), Chloride (Cl), Plumbum (Pb), and Zinc (Zn).

The results show that Helicobacter pylori could survive in water over prolonged periods. It survives in well water for nine days, six days in tap water plus urea and domestic waste water. Helicobacter pylori survived in three kinds of water six days and show morfological changes from spiral shapes to coccoid forms. Anyway, the results indicate that Helicobacter pylori could survive in water environment which may thus act as a potential reservoir of infection.

RINGKASAN

Kata kunci : Helicobacter pylori, Air, dan daya hidup

Belakangan ini, Helicobacter pylori dikenal sebagai bakteri patogen pada manusia yang menyebabkan gastritis kronis, tukak lambung bahkan kanker lambung. Helicobacter pylori ditemukan oleh Warren dan Marshall pada tahun 1983. Bersifat Gram negatif, berbentuk spiral, yang hidup pada pH 7-8, dan suhu 37 °C, dan hidup hanya dalam kondisi mikroaerofilik.

Air terkontaminasi dapat menjadi rute transmisi infeksi Helicobacter pylori. Transmisinya dapat melalui rute fekal-oral atau oral-oral. Namun rute yang pasti masih dipertanyakan.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui berapa lama Helicobacter pylori dapat hidup dalam lingkungan air. Macam air yang dipakai adalah air bran (PDAM) + urea, air limbah domestik, dan air sumur selama 12 hari pengamatan.

Metode penelitian ini adalah eksperimen murni : "Only Control Group Design". Data dianalisis menggunakan analisis regresi , univarian-multivarian dengan uji Scheffe serta uji F. Parameter kimia air yang diuji adalah pH, Nitrit (NO₂), Nitrat (NO₃), Amonia (NH₄), Natrium (Na), Klor (Cl), Plumbum (Pb), dan Seng (Zn).

Hasilnya menunjukkan bahwa Helicobacter pylori mampu hidup dalam air sumur selama sembilan hari, serta pada air bran (PDAM) + urea, dan air limbah domestik selama enam hari; meskipun mulai hari keenam terjadi perubahan bentuk morfologi sel Helicobacter pylori dari spiral menjadi kokus. Hasil ini mengindikasikan bahwa Helicobacter pylori dapat bertahan hidup dalam air dan menjadi faktor potensial sebagai sumber infeksi.

DAFTAR ISI

	halaman
UCAPAN TERIMAKASIH.....	i
ABSTRACT.....	ii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR SINGKATAN.....	ix
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 <i>Helicobacter pylori</i> Sebagai Mikroba Patogen.....	8
2.2 Gambaran Biokimiawi <i>Helicobacter pylori</i>	10
2.3 Pertumbuhan <i>Helicobacter pylori</i>	11
2.3.1 Media Khusus <i>Helicobacter pylori</i>	11
2.3.2 Suhu dan pH.....	15
2.3.3 Laju Pertumbuhan.....	17
2.3.4 Kebutuhan Untuk Pertumbuhan <i>Helicobacter pylori</i>	18
2.4 Cara Penyebaran <i>Helicobacter pylori</i>	23
2.5 Air Kran (PDAM) Ditambah Urea, Air Limbah Domestik, dan Air Sumur.....	26
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL & HIPOTESIS PENELITIAN.....	31
3.1 Kerangka Konseptual.....	31
3.2 Hipotesis Penelitian.....	37
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	38
4.1 Jenis Penelitian.....	38
4.2 Rancangan Penelitian.....	38
4.3 Tempat dan waktu Penelitian.....	40
4.3.1 Tempat Penelitian.....	40
4.3.2 Waktu Penelitian.....	40
4.4 Sampel Penelitian.....	40
4.5 Variabel Penelitian.....	41
4.5.1 Variabel Tergantung (<i>Dependent</i>).....	41
4.5.2 Variabel Bebas (<i>Independent</i>).....	41
4.5.3 Variabel Moderator.....	41
4.5.4 Variabel Kendali (<i>Control</i>).....	41

4.6	Definisi Operasional Variabel.....	42
4.6.1	Variabel Tergantung (<i>Dependent</i>).....	42
4.6.2	Variabel Bebas (<i>Independent</i>).....	42
4.6.3	Variabel Moderator.....	43
4.6.4	Variabel Kendali (<i>Control</i>).....	43
4.7	Bahan dan Alat Yang Digunakan.....	43
4.7.1	Bahan Penelitian.....	43
4.7.2	Alat Penelitian.....	44
4.8	Prosedur Penelitian	45
4.8.1	Cara Pengambilan Air dan Analisis Komponen Air.....	45
4.8.2	Pemilihan & Perlakuan pada Mencit Balb /C (Sehat) Dan Pembiakan Tinja.....	46
4.8.3	Isolasi <i>Helicobacter pylori</i>	47
4.8.4	Uji- Uji Biokimia <i>Helicobacter pylori</i>	47
4.8.5	Pembiakan Ulang <i>Helicobacter pylori</i>	49
4.8.6	Pewarnaan Gram.....	49
4.8.7	Penentuan Jumlah Inokulum <i>Helicobacter pylori</i> pada Media Uji.....	50
4.8.8	Uji Daya Hidup <i>Helicobacter pylori</i>	51
4.8.9	Penentuan Waktu Inkubasi Untuk Uji Daya Hidup <i>Helicobacter pylori</i>	51
4.8.10.	Analisis Data.....	52
BAB 5	HASIL PENGAMATAN DAN ANALISIS DATA.....	53
5.1	Hasil Pengamatan.....	53
5.1.1.	Morfologi Sel dan Koloni <i>Helicobacter pylori</i>	53
5.1.2.	Hasil Uji Biokimia <i>Helicobacter pylori</i>	54
5.2	Analisis Data Mengenai Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> dan Waktu.....	55
5.3	Pemeriksaan Kimia Air.....	65
BAB 6	PEMBAHASAN.....	68
6.1	Pembiakan dan Uji Biokimia <i>Helicobacter pylori</i>	68
6.2	Uji Daya Hidup <i>Helicobacter pylori</i>	74
6.2.1	Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Pada Media Thioglycollate (Kontrol).....	76
6.2.2	Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Pada Media Air Sumur....	78
6.2.3	Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Pada Media Air Limbah Domestik.....	79
6.2.4	Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Pada Air Kran (PDAM)+ Urea	80
6.3	Faktor Yang Mempengaruhi Daya Hidup <i>Helicobacter pylori</i>	81
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN.....	88
	DAFTAR PUSTAKA.....	89
	LAMPIRAN.....	97

DAFTAR TABEL

Nomor Tabel	halaman
Tabel 2.1. Media Padat Untuk <i>Helicobacter pylori</i>	13
Tabel 2.2. Media Cair Untuk <i>Helicobacter pylori</i>	14
Tabel 2.3. Komposisi Air Sehat Menurut WHO.....	28
Tabel 2.4. Konsentrasi Substansi Toksik Yang Menyebabkan Terhambatnya Proses Biologi Dalam Air Limbah Domestik.....	30
Tabel 2.5. Komposisi Limbah Domestik.....	30
Tabel 4.1. Rancangan Penelitian Untuk Pengambilan Data	39
Tabel 5.1. Morfologi sel Dan Koloni <i>Helicobacter pylori</i>	53
Tabel 5.2. Uji Biokimia <i>Helicobacter pylori</i>	54
Tabel 5.3. Hasil Pemeriksaan Kimia Air.....	66

DAFTAR GAMBAR

Nomor Gambar	halaman
Gambar 2.1. Penggunaan Glukosa oleh <i>Helicobacter pylori</i>	19
Gambar 2.2. Skema Amonia sebagai posisi kunci dalam asimilasi Nitrogen oleh bakteri.....	20
Gambar 2.3. Saat epitel lambung terkolonisasi dengan <i>Helicobacter pylori</i>	22
Gambar 2.4. Aktivitas urea pada bakteri.....	23
Gambar 2.5. Na ⁺ menyeberang mukosa dengan menghancurkan Na ⁺ Bergantung muatan permukaan.....	23
Gambar 3.1. Bagan kerangka konseptual.....	36
Gambar 5.1. <i>Helicobacter pylori</i> dari Tinja Mencit Balb/ C dengan Pengecatan Gram dengan Perbesaran 1000 x.....	54
Gambar 5.2. Koloni <i>Helicobacter pylori</i> pada Blood Agar Plate.....	55
Gambar 5.3. Diagram Batang Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Dalam Media Thioglycollate (Kontrol)	56
Gambar 5.4. Diagram Batang Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Dalam Media Air Sumur.....	57
Gambar 5.5. Diagram Batang Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Dalam Media Air Limbah Domestik.....	58
Gambar 5.6. Diagram Batang Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Dalam Media Air Kran (PDAM) + Urea.....	64
Gambar 5.7. Grafik Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Menurut Waktu Pengamatan Pada Media Thioglycollate (kontrol) Media Air Sumur, Air Limbah Domestik, dan Air Kran (PDAM) + urea	62
Gambar 5.8. Diagram Batang Jumlah Sel <i>Helicobacter pylori</i> Secara Gabungan (Pada Keempat Jenis Air).....	64
Gambar 6.1. Degradasi HidrogenPeroksida.....	71
Gambar 6.2. Anaerobik Jar yang digunakan untuk memenuhi syarat Hidup mikroaerofilik bagi <i>Helicobacter pylori</i>	73
Gambar 6.3. Degradasi Urea oleh <i>Helicobacter pylori</i>	75

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor Lampiran	halaman
Lampiran 1. Standar Mc. Farlands (Barium-Sulfat).....	97
Lampiran 2. Foto Microbact 12 E	98
Lampiran 3. Perhitungan Angka Oktal.....	99
Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Kimia Awal Di Departemen Kesehatan R I Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.....	100
Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Kimia Akhir Di Departemen Kesehatan R I Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.....	101
Lampiran 6. Analisis Regresi Lengkap , Analisis Varian Univariate dan Multivariate dengan Uji Schefe dan Uji F.....	102

DAFTAR SINGKATAN

CFU	=	Coloni Forming Unit
TTC	=	Triphenyl Tetrazolium Chloride
EGTA	=	Ethylene Glycol-bis (beta amino ethyl ether)-N,N,N',N'-Tetra Acetic Acid
BAP	=	Blood Agar Plate
BHI	=	Brain Heart Infusion
DMSO	=	Dimethyl Sulfoxide
ATP	=	Adenosin Tri Phospat
IDWS	=	International Drinking Water Standard
BBI	=	Belgian Biotic Indeks
BOD	=	Biological Oxygen Demand
COD	=	Chemical Oxygen Demand
WHO	=	World Health Organization
IPAL	=	Instalasi Pengolahan Air Limbah
PDAM	=	Perusahaan Daerah Air Minum

BAB 1

PENDAHULUAN



1.1. Latar Belakang

Helicobacter pylori pertama kali ditemukan pada tahun 1983. Bakteri ini berbentuk spiral atau batang bengkok, Gram negatif yang hanya hidup di lambung antara mukosa lambung dan lapisan mukus. Infeksi oleh bakteri ini dihubungkan dengan gastritis kronis serta penyakit lambung lain (Greenwood et.al., 1992).

Dewasa ini sudah tidak disangsikan lagi bahwa *Helicobacter pylori* adalah mikroba yang patogen bagi manusia. Mikroba ini menyebabkan proses radang kronik pada lambung, memegang peranan dalam patogenesis penyakit tukak peptik, bahkan kanker lambung (Djajapranata., 1997).

Tetapi pengetahuan tentang transmisi /rute penularan *Helicobacter pylori* masih belum jelas. Yang masih menjadi pertanyaan adalah faktor-faktor lingkungan yang menyebabkan seseorang mudah terkena infeksi ini. Dilihat dari sifat hidupnya, *Helicobacter pylori* hanya dapat hidup baik pada kondisi mikroaerofilik. Pada kondisi aerob bakteri ini akan segera mati dalam waktu yang singkat (Tomkins, dalam Rathbone dan Heatley, 1989).

Cara bakteri ini menular dari satu individu ke individu lainnya belum diketahui dengan jelas. Salah satu diantaranya yang masih menjadi pertanyaan adalah faktor-faktor lingkungan yang menyebabkan seseorang mudah terkena infeksi oleh *Helicobacter pylori* (Wennyastuti, dkk., 1993).

Ada dugaan bahwa *Helicobacter pylori* disebarkan melalui air secara fekal-oral. Ini didukung hasil penelitian terakhir bahwa *Helicobacter pylori* dapat diisolasi dari tinja manusia (Thomas ., 1992) dan kotoran gigi (*dental plague*) (Rathbone dan Heatley, 1989).

Namun belum ada laporan yang secara tegas memberikan bukti bahwa air merupakan media penyebaran *Helicobacter pylori*. Diperlukan data dan eksperimen berupa isolasi *Helicobacter pylori* dari sumber air serta data eksperimental yang menunjukkan daya tahan hidup *Helicobacter pylori* pada berbagai macam air, untuk membuktikan bahwa *Helicobacter pylori* disebarkan melalui air secara fekal-oral.

Di beberapa negara seperti Peru penularan dapat terjadi dari sumber air minum tercemar. Tetapi air minum sebagai sumber penularan *Helicobacter pylori* masih belum ada konfirmasi dari studi-studi lain.

Jika dilihat komposisinya, air kran (PDAM) mengandung amonia dan klorin yang penting artinya dalam proses klorinasi air. Ion amonium terdapat dalam keseimbangan dengan amonia dan ion hidrogen (Winarno, 1986). Selain itu air minum juga mengandung kadar N-Nitrat dalam kadar yang bervariasi, standard yang berlaku adalah lebih kecil dari 10 mg/l (Rump dan Krist, 1992). Dalam Rahim (1997) disebutkan bahwa *Helicobacter pylori*

memproduksi enzim urease dalam jumlah banyak. Ini merupakan suatu faktor untuk penyesuaian diri terhadap lingkungan asam lambung. Enzim ini memecah urea menjadi amonia (NH_3) dan karbondioksida (CO_2). Adanya amonia atau urea digunakan sebagai alat untuk mengetahui secara tepat keberadaan *Helicobacter pylori* (Abbas, 1992).

Kandungan amonia dan nitrat dalam Hazell (1990) merupakan salah satu kebutuhan hidup bagi *Helicobacter pylori*. Disebutkan bahwa amonia memegang posisi kunci dalam proses metabolisme *Helicobacter pylori*. Disamping itu, pada air limbah domestik (buangan dari rumah tangga) dengan derajat kontaminasi yang beragam, komposisi amonia juga tinggi. Hal ini dimungkinkan karena kontaminasi hasil /buangan kamar mandi yang diantaranya terdapat urine manusia (Rump dan Krist, 1992). Dalam Abbolito et. al., (1992) disebutkan bahwa dalam habitat aslinya (dalam lambung) keberadaan *Helicobacter pylori* sangat berhubungan erat dengan kadar urea. Pada penderita gastritis dengan kadar urea 15 mg/dl dan pH 3,5 . Selain itu, dalam air sumur, seringkali terjadi rembesan /kontaminasi dengan air yang berasal dari saluran air limbah domestik (misalnya saluran buangan dari kamar mandi, *septic tank*) ataupun saluran air lain yang akhirnya menjadi kesatuan air terkontaminasi. Dengan demikian air sumur dimungkinkan masih mengandung urea sebagai kebutuhan hidup yang utama bagi *Helicobacter pylori*.

Selain itu, air juga mengandung bermacam-macam senyawa kimia seperti logam dan mineral. Air yang sehat untuk dikonsumsi menurut WHO harus mengandung senyawa-senyawa kimia serta mineral penting (Rump dan Krist, 1992). Namun biasanya pada limbah domestik ditemukan kontaminasi logam-logam berat dengan kadar/ konsentrasi yang lebih tinggi (Mason, 1991). Sedangkan dalam Perez et. al.,(1994) dinyatakan bahwa *Helicobacter pylori* membutuhkan kation-kation (seperti natrium, kalium, magnesium) dalam menstabilkan aktivitas urea dalam air. Hal ini berhubungan erat dengan mekanisme pergantian ion pada sel mukosa dan muatan positif epitel permukaan lambung (sebagai habitat asli *Helicobacter pylori*) (Hazell, 1990).

Berbagai komposisi air serta pengaruhnya seperti disebutkan di atas bila dihubungkan dengan kebutuhan untuk pertumbuhan suatu bakteri seperti *Helicobacter pylori* saling berkaitan, meskipun secara mikrobiologi, sifat *Helicobacter pylori* yang sangat rentan (*fastidious*), masih menjadi tanda tanya. Dengan demikian, studi epidemiologi serta rute transmisi /cara penyebaran bakteri ini perlu ditelaah kembali.

Pada saat ini memang ada beberapa teori yang diajukan. Terjadinya penularan fekal – oral yang selama ini paling banyak dikemukakan oleh para ahli didukung oleh fakta bahwa *Helicobacter pylori* ini dapat dibiakkan dari tinja. Tapi bagaimana proses pemindahan *Helicobacter pylori* dari tinja kepada orang lain yang rentan masih menjadi tanda tanya. Sangat menarik bahwa banyak penelitian yang menunjukkan tidak adanya hubungan antara penularan infeksi dengan sumber air minum. Hal ini memberikan kesan bahwa

air minum bukanlah pembawa (*vehicle*) yang penting untuk pemindahan infeksi *Helicobacter pylori* (Soewignjo, 1995).

Meskipun sampai sekarang *Helicobacter pylori* tidak ditemukan dalam keadaan hidup dalam air / tanah, namun penelitian di Peru melaporkan bahwa air merupakan salah satu faktor yang penting dalam penularan *Helicobacter pylori* pada anak – anak. Pada studi eksperimen ternyata *Helicobacter pylori* dapat hidup dalam air dan makanan dingin untuk beberapa hari. *Helicobacter pylori* diduga mempunyai bentuk non spiral yaitu berbentuk kokoid yang dapat bertahan hidup dalam air segar sampai satu tahun (West dalam Harijono, 1996). Namun untuk lebih jelasnya butuh penelitian yang lebih lanjut.

Dengan demikian, kesan bahwa air minum bukanlah pembawa (*vehicle*) yang penting untuk pemindahan infeksi *Helicobacter pylori* masih perlu dipelajari dan dikaji ulang lebih mendalam, guna menambah informasi ilmiah mengenai epidemiologi serta rute transmisi / penularan *Helicobacter pylori*.

1.2. Rumusan Masalah.

1.2.1. Apakah daya hidup /jumlah sel (*cell count*) *Helicobacter pylori* menurun pada penanaman di air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur ?

1.2.2. Apakah ada perbedaan dalam jumlah sel (*cell count*) *Helicobacter pylori* yang hidup di air kran (PDAM) yang ditambah urea , air limbah domestik, air sumur pada jangka waktu dua belas hari ?

1.3. Tujuan Penelitian.

1.3.1. Mengetahui pengaruh air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur pada daya hidup *Helicobacter pylori*.

1.3.2. Mengetahui jangka waktu berapa lama ; air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur dapat mempengaruhi daya hidup *Helicobacter pylori* .

1.4. Manfaat penelitian.

Memperoleh informasi ilmiah mengenai :

1.4.1. Pengaruh air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur pada daya hidup *Helicobacter pylori*.

1.4.2. Jangka waktu berapa lama air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik dan air sumur dapat mempengaruhi daya hidup *Helicobacter pylori*. Dengan demikian dapat dihubungkan dengan studi epidemiologi serta rute transmisi / cara penularan bakteri ini.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Helicobacter pylori* Sebagai Mikroba Patogen.

Beberapa tahun terakhir, para ahli fisiologi menjelaskan bahwa munculnya penyakit peradangan lambung atau gastritis yang lama-kelamaan bisa mengakibatkan ulkus peptikum bahkan kanker lambung, disebabkan karena tidak seimbangnya faktor agresif dan faktor protektif. Bila faktor agresif berada dalam kondisi yang seimbang dengan faktor protektif maka tidak akan timbul peradangan (histologi normal), tetapi bila tidak seimbang peradangan pasti terjadi. Dalam hal ini faktor agresif adalah bahan iritan (makanan yang merangsang, pedas, alkohol, kopi), asam, empedu, obat anti inflamasi, anti reumatik, stress dan infeksi bakteri, sedangkan faktor protektif adalah selaput lendir, regenerasi sel, dan aliran darah yang baik (Sonnenberg, 1995). Pada kasus-kasus yang terjadi sering ditemukan penderita yang berulang kali berobat tanpa hasil yang memuaskan. Hal ini sejalan dengan yang dikatakan Djajapranata (1994) bahwa *Helicobacter pylori* berbeda dengan mikroba patogen lainnya yang pada umumnya hanya dapat hidup dalam tubuh manusia untuk beberapa hari atau minggu saja, *Helicobacter pylori* mampu bertahun-tahun sampai beberapa dasawarsa, bahkan mungkin selama hidup

penderita. Dan selama itu mikroba akan giat melakukan aktivitasnya yang menyebabkan peradangan.

Mekanisme patogenesis oleh *Helicobacter pylori* dapat dijelaskan secara sederhana yaitu diawali dengan sifat patogen dan virulensi yang lemah dan terbatas akan bertambah dengan kemampuan bakteri ini hidup dalam cairan lambung. Proses kimia sebagai usaha adaptasi ialah dengan menghidrolisis urea menjadi amonia, yang merupakan lingkungan yang sesuai untuk kehidupan *Helicobacter pylori* (Skirrow, 1992). Dalam lambung *Helicobacter pylori* menuju lapisan mukosa yang mengandung bahan makanan untuk dikonsumsi. Pada dinding luar bakteri ini terdapat lektin, yaitu protein selektif yang dapat berkaitan dengan karbohidrat dalam mukosa dan membran sel epitel mukosa. Adanya lektin ini memungkinkan *Helicobacter pylori* terikat erat dengan sel epitel mukosa dan dapat mengeliminasi aktin yang terdapat di bawah membran sel epitel. Pada daerah ini terjadi pertumbuhan struktur sel yang dikenal sebagai kaki pengikat (*pedestal attachment*). Melalui pedestal ini enzim-enzim serta hasil-hasil metabolisme dapat mencapai mukus yang dihasilkan sel epitel (Evans et.al., 1988). Aktivitas enzimatik *Helicobacter pylori* dapat menyebabkan rusaknya ketahanan mukosa lambung yang bila dibiarkan akan menyebabkan peradangan dan tukak lambung. Urease diproduksi dalam jumlah besar, bersifat toksik dan merupakan salah satu faktor penting dalam terjadinya kerusakan jaringan lambung lewat perantaraan amonia. Selain itu urease mempunyai sifat antigenik yang imunodominan. Katalase berdampak dapat

melawan fagositosis, fosfolipase dapat menghancurkan membran epitel, dan protease mampu mencerna epitel mukosa (Hariadi, 1995).

2.2. Gambaran Biokimiawi *Helicobacter pylori*

Secara fisiologis *Helicobacter pylori* memakai asam organik dan asam amino seperti asam aspartat dan glutamat di dalam serum, yang kemudian memasuki siklus Krebs dan dapat dipakai sebagai sumber energi (Hazell, 1992).

Enzim-enzim yang dihasilkan oleh *Helicobacter pylori* adalah sebagai berikut :

Urease. Produksi urease oleh bakteri ini sangat banyak. Enzim ini merupakan salah satu faktor penyesuaian diri terhadap lingkungan lambung, yang akan memecah urea menjadi amonia (NH_3) dan karbondioksida (CO_2). Amonia memegang posisi kunci dalam proses metabolisme *Helicobacter pylori* , dimulai dengan fiksasi Nitrogen menjadi bentukan amonia dari senyawa asal urea. Kemudian dibantu proses reduksi nitrat, amonia dirubah menjadi glutamin yang memasuki jalur alternatif sedangkan bentukan glutamat mengalami transaminasi menjadi asam amino. Para ahli sepakat bahwa urease yang dihasilkan ini dapat digunakan untuk mengetahui secara cepat keberadaan *Helicobacter pylori* .Satu faktor penyesuaian diri *Helicobacter pylori* yang lain adalah reduksi nitrit dan nitrat (Hazell, 1992).

Katalase. Enzim katalase dapat dihasilkan sama seperti urease, mempunyai BM 180.000 Dalton dan dapat memecah 44 mili mol H₂O₂ per menit per milligram protein. Enzim-enzim lain. Enzim-enzim lain dihasilkan antara lain adalah : gama glutamil transferase, alkaline phosphatase, DNase, hypuricase, aminopeptidase dan esterase. Di antara enzim-enzim tersebut variasinya tidak cukup untuk membedakan strain-strain di antara bakteri (Abbas, 1992).

2.3. Pertumbuhan *Helicobacter pylori*

2.3.1. Media khusus *Helicobacter pylori*

Untuk isolasi *Helicobacter pylori* dapat dipergunakan beberapa media baik yang bersifat padat maupun cair. Medium padat dengan darah segar merupakan pilihan banyak peneliti. Medium padat yang banyak dipakai adalah agar "brain heart infusion" ditambah 7% darah kuda dan 1% Isovitalex. Medium ini sudah terbukti bekerja sangat baik, hanya saja harganya cukup mahal. Medium padat lainnya adalah agar brucella ditambah 10% darah sapi dan 1% Isovitalex. Pada media tersebut dapat juga ditambahkan 2,3,5 triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 40 mili gram per liter. Koloni *Helicobacter pylori* akan tampak lebih jelas dengan kilapan emas pada medium yang mengandung TTC. Selain TTC, beberapa peneliti ada yang menambahkan arang sebagai senyawa pengikat bahan toksik pada media. Tetapi arang

dapat juga mengikat antibiotika yang ditambahkan pada media sehingga kemungkinan dapat menurunkan efektivitas antibiotika. Sebagai ganti darah atau serum, dapat dipakai kuning telur (Marshall et.al., 1991).

Untuk isolasi primer diperlukan tambahan antibiotika untuk mengurangi kontaminasi oleh bakteri yang ada di rongga mulut. Hal ini perlu diperhatikan karena pada waktu melakukan endoskopi sangat sulit dihindari terjadinya kontak dengan bakteri yang berada di rongga mulut tersebut. Untuk tujuan ini dipakai kombinasi antibiotika yang dapat membunuh bakteri maupun jamur (Suata dan Suyasa, 1995). Adapun secara ringkasnya dapat dilihat pada tabel 1 dan 2, berikut ini :



Tabel 2. 1 : Media Padat untuk *Helicobacter pylori*

Peneliti	Agar	Konstituen
A. Goodwin dkk	Brain Heart Infusion (BHI)	7% darah kuda sebagai media 1% isovitalex pengaya (enrichment culture) asam nalidiksat (20 mg/1) vancomycin (6 mg/1) amphotericin B (2 mg/1) } antibiotika
B. Itoh dkk	Marshall's Selective BHI Blood Agar	BHI ditambah : 75% darah kuda asam nalidiksat (10mg/1) trimetoprim (5mg/1) vancomycin (3mg/1) amphotericin (2mg/1) } antibiotika Agar Skirrow untuk isolasi, dengan tambahan : - 37,5% agar darah - 52,5% Marshall selective BHI Blood Agar - 53,8% Skirrow Agar
C. Studi Amsterdam	Columbia	5% darah kuda Skirrow suplemen – sebagai media selektif Vancomycin (6 mg/1) Asam nalidiksat (20 mg/1) Amphotericin (2 mg/1) Serum kuda } untuk kebutuhan Tepung, arang } tambahan /suplemen
D. Buck Smith	GC-Agar	1% Hemin selanjutnya tidak dilaporkan
E. Hirsch	Mueller Hinton	3% darah kambing trimetoprim (5 mg/1)
F. Queiroz	BHI	10% darah kambing TTC (40 mg/1) → zat aditif Asam nalidiksat (20 mg/1) Vancomycin (6 mg/1) Amphotericin B (2 mg/1)
G. Glupezynki	BHI	10% darah kuda 0,2 arang → sebagai zat anti-fungsi anti kontaminan 1% yeast extract → sebagai suplemen cefsulodin (5 mg/1) trimetoprim (5 mg/1) vancomycin (10 mg/1) amphotericin (10 mg/1)
H. Dent Mc.Nulty	Columbia	7% darah kuda cefsulodin (5 mg/1) trimetoprim (5 mg/1) vancomycin (10 mg/1) amphotericin (10 mg/1)
I. Westbloom	Columbia	10% kuning telur 1% isovitalex TTC 40 mg/1 Cefsulodin (5 mg/1) Trimetoprim (5 mg/1) Vancomycin (6 mg/1) Amphotericin B (6 mg/1)
J. Oxoid	Columbia	7% darah kambing vancomycin (10 mg/1) trimetoprim (5 mg/1) cefsulodin (5 mg/1) amphotericin B (5 mg/1)

(Marshall et.al., 1991 dan Bridson, 1991)

Tabel 2.2 : Media cair untuk *Helicobacter pylori*

Peneliti	Media Dasar	Konstituen
A. Buck Smith	Brucella	5% serum kuda
B. Buck Smith	Brucella	1% pati jagung
C. Morgan	Brucella	10% serum domba
D. Armstrong	BHI	10% serum kuda 0,25% yeast extract
E. Westbloom	Brucella	10% serum kuda 1% isovitalex
F. Hudson	Brucella	1% serum sapi piruvat

(Marshall et.al.,1991)

Media Transpor *Helicobacter pylori* . Untuk mendapatkan hasil kultur yang optimal, maka sangat penting dilakukan penanaman pada media kultur segera setelah biopsi (teknik endoskopi) dilaksanakan. Tetapi bila letak laboratorium mikrobiologi jauh dari ruang endoskopi, bisa digunakan media transpor yaitu :

- a. NaCl steril 0,9%.
- b. Glukosa 20% pada 4°C untuk jangka waktu 5 jam.
- c. Agar Brucella padat dengan 10% darah sapi ditambah 1% isovitalex.
- d. Agar Brucella ditambah 10% darah kuda dan 1% isovitalex.
- e. Brain Heart Infusion (BHI) ditambah 7% darah kuda dan 0,5% agar Thioglycollate (Marshall dkk., 1991).

Media untuk Penyimpanan Biakan (Storage Media). Untuk menyimpan kultur *Helicobacter pylori* diperlukan media khusus yaitu :

- a. Nutrien Broth ditambah 20% gliserol disimpan pada suhu -20°C atau 70°C.
- b. Brucella Broth ditambah 10% serum sapi dan 10% gliserol, penambahan serum sebelum proses pendinginan.
- b. Nitrogen cair dengan tambahan 10% Brucella Broth, 10% serum dan 10% Dimethyl Sulfoxide (DMSO).
- b. Sebagai pendingin dipakai larutan 5% inositol serum, 5% inositol broth dan 25% glukosa (Marshall et.al., 1991).

2.3.2 Suhu Dan pH

Helicobacter pylori dapat tumbuh baik pada suhu 33-40°C (suhu optimal 37°C) dengan suasana kelembaban yang sangat tinggi (Suata dan Suyasa, 1995). Menurut Blaser (1993) *Helicobacter pylori* memerlukan suhu untuk inkubasi yang hampir sama dengan *Campylobacter pylori* yaitu berkisar pada 37°C.

Helicobacter pylori tumbuh baik pada pH berkisar antara 5,5 – 8,5 namun pertumbuhan optimal didapati pada kisaran pH 6,9 – 8. Bila dihubungkan dengan kondisi keasaman *Helicobacter pylori* mempunyai mekanisme tersendiri untuk dapat bertahan hidup. *Helicobacter pylori* sangat peka terhadap pH rendah, berkat motilitasnya bakteri ini mampu menghindar

dari lingkungan asam dengan cara menembus lapisan mukus dan hidup di permukaan epitel mukosa lambung dengan pH hampir netral (Djajapranata, 1994). Selain itu amonia yang dihasilkan dari urea oleh mikroba ini menciptakan lingkungan basa mikro yang memungkinkan mikroba ini bertahan dalam suatu lingkungan yang tidak menguntungkan (Djajapranata, 1997). Adapun mekanisme tersebut dapat dijelaskan dengan kemampuan bakteri ini memproduksi urease dalam jumlah yang sangat banyak. Urease yang dihasilkan *Helicobacter pylori* akan memecah urea yang ada dalam mukosa lambung menjadi amoniak yang selalu menyelimuti (Soewignjo dkk, 1993).

Pada umumnya, jumlah mikroba dalam lambung bertambah bila pH meningkat. Bertambahnya jumlah mikroba ini sifatnya hanya sementara dan tidak sampai mengakibatkan pertumbuhan mikroba yang tidak berdampak secara klinis (Djajapranata, 1994). Keasaman lambung bisa mendekati 1, tetapi karena adanya pengenceran dan proses ionisasi zat aktif akan mencapai 3. Walaupun demikian *Helicobacter pylori* mampu beradaptasi terhadap lingkungan yang sangat asam (Axon, 1993).

2.3.3 Laju Pertumbuhan.

Helicobacter pylori termasuk mikroba yang pertumbuhannya lambat dalam semua macam media biakan, sehingga untuk pemeriksaan biakan diperlukan waktu 3-7 hari. Dapat dikatakan bakteri ini termasuk prototip lamban (Djajapranata, 1995^a). Menurut Jawetz et.al.,(1991) dalam penanganan mikroaerofilik memerlukan ketekunan dan ketelitian yang tinggi, demikian juga dengan *Helicobacter pylori*. Bila tidak ada anaerobik jar bisa dipakai desikator dengan nyala lilin di dalamnya. Hasil inokulasi *Helicobacter pylori* disimpan dalam anaerobik jar sekitar 4 hari, ini menunjukkan waktu yang dibutuhkan untuk membentuk koloni sempurna sekitar 4 hari. Sedangkan Djajapranata (1995^b) mengatakan bahwa *Helicobacter pylori* tumbuh lambat pada media biakan sehingga diperlukan waktu inkubasi yang agak lama. Sebagai alternatif inkubator mikroaerofilik yang digunakan adalah sistem gas pak dengan memakai peralatan khusus (*kit campy*) yang tersedia di pasaran bebas.

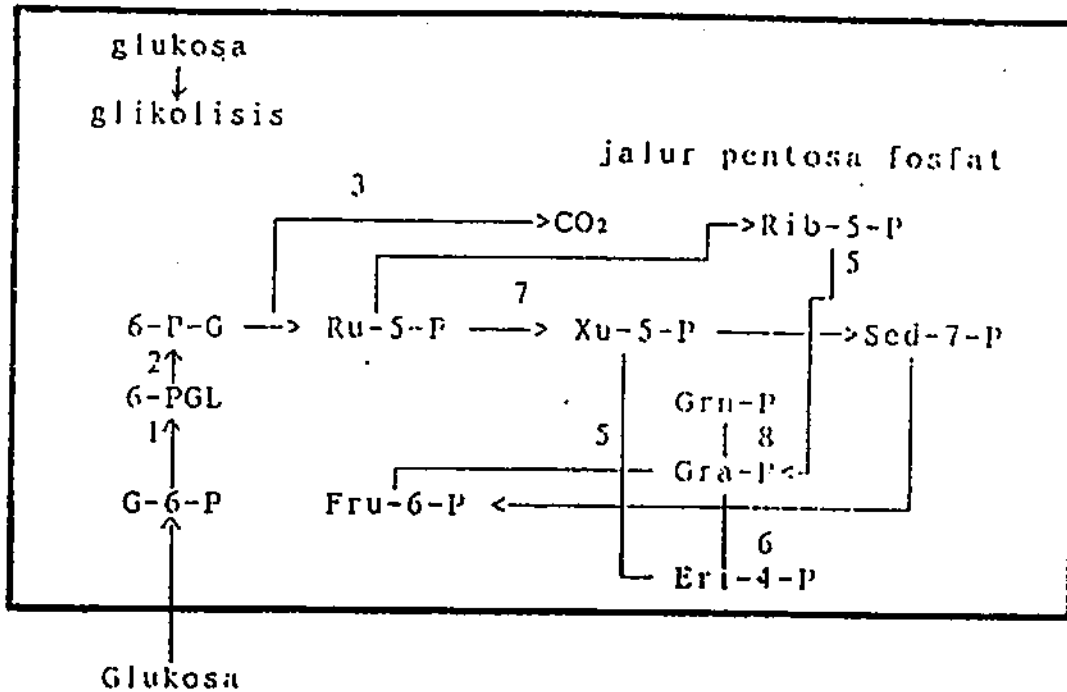
Pada koloni *Helicobacter pylori* dalam media padat, sel-sel yang menyusun koloni cenderung mengumpul,tidak bisa tersebar merata pada permukaan medium agar. Bentuk demikian menunjukkan sifat *Helicobacter pylori* yang cenderung berasosiasi atau mengelompok (Greenwood et.al., 1992). Sedangkan pada media cair, fase logaritma dari laju pertumbuhan *Helicobacter pylori* cepat tercapai, ditandai dengan motilitas yang tinggi dari

bakteri ini. Sebaliknya fase stasioner, bila diamati secara mikroskopis tidak berbentuk heliks tetapi kokus (Ferrero, 1995).

2.3.4 Kebutuhan Untuk Pertumbuhan *Helicobacter pylori*.

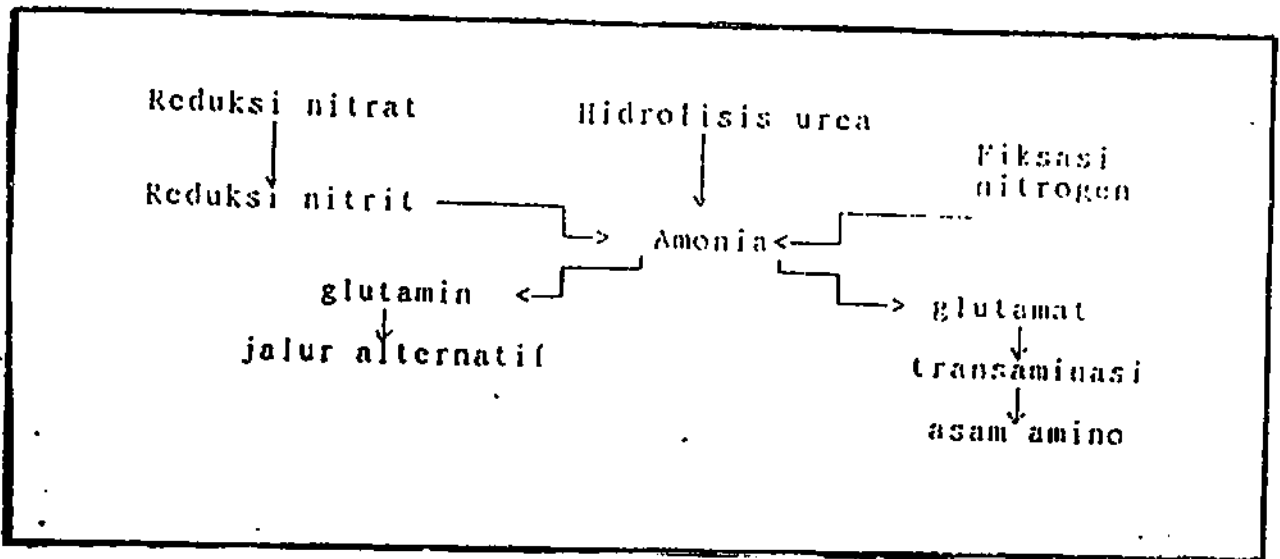
Studi yang mempelajari tentang kebutuhan pertumbuhan serta metabolisme *Helicobacter pylori* masih sangat sedikit. Seperti *Campylobacter*, *Helicobacter pylori* tidak dapat menggunakan karbohidrat sebagai sumber energinya, tetapi menggunakan asam organik dan asam amino melalui siklus Krebs. Mendz dan Hazell (1995) mengidentifikasi keberadaan enzim untuk jalur pentosa fosfat. Dalam proses respirasinya, *Helicobacter pylori* menggunakan elektron potensial organik. Pada kondisi keterbatasan besi (*iron*), beberapa strain *Helicobacter pylori* menunjukkan bentukan membran luar protein yang unik, sebagai tanda kebutuhan akan besi. Hal ini mendukung suasana dalam lambung yang mengandung banyak laktoferin, untuk membatasi jumlah besi bebas (*free iron*) (Goodwin., et. al, 1993).

Tetapi dalam Ferrero (1995) dinyatakan asumsi selama ini bahwa *Helicobacter pylori* tidak menggunakan glukosa sebagai sumber energinya perlu ditelaah kembali. Glukosa dapat digunakan *Helicobacter pylori* sebagai sumber Carbon dan energinya. Penggunaan glukosa oleh *Helicobacter pylori* dapat dijelaskan dengan skema sebagai berikut :



Gambar 2.1 : Penggunaan glukosa oleh *Helicobacter pylori*. Glukose masuk dalam sel dan terfosforilasi menjadi glukose –6 fosfat dengan enzim glukokinase. Jalur ini tidak menunjukkan bagian dari jalur pentosa fosfat pada *Helicobacter pylori*. Jalur pentosa fosfat dari *Helicobacter pylori* terdiri dari enzim-enzim : glukose –6 fosfat dehidrogenase, 6-fosfoglukolaktone, 6- fosfoglukonat dehidrogenase, fosforibose isomerase, transketolase, transaldolase, dan xilose fosfat epimerase. Reaksi katalis dengan triose fosfat isomerase, ATP ase serta adenilat kinase. Metabolik intermediet adalah 6 PGL, 6-fosfoglukonolaktone, 6 PG, 6-fosfoglukonat, Ru5P, ribulose-5-fosfat, Rib 5 P, ribose-5-fosfat, Xu 5 P, xilose-5-fosfat, Sed -7-P, sedoheptulose-7-fosfat, Gra P, gliseraldehid-3-fosfat, ery 4 P, eritrose-4-fosfat, Fru 6 P, fruktose-6-fosfat (Hazell dan Mendz, 1990).

Amonia memegang peranan yang penting (posisi kunci) dalam proses asimilasi nitrogen oleh bakteri,. Proses ini terdiri dari reduksi nitrat , nitrit, fiksasi nitrogen dan hidrolisis urea, seperti bagan berikut ini :



(Hazell, 1992).

Gambar 2.2 : Skema Amonia sebagai posisi kunci dalam asimilasi nitrogen oleh bakteri. Terdiri dari reduksi nitrat, nitrit, fiksasi nitrogen dan hidrolisis urea.

Efek kekuatan ion, pH, urea, protein, dan tekanan atmosfer saat inkubasi pada keberhasilan hidup *Helicobacter pylori* NCTC 11637 dan dua isolat klinik (CI 82 dan 92) sudah dipelajari. Hasilnya, *Helicobacter pylori* lebih dapat hidup pada 0,05 Molar larutan garam (*saline*) dibanding pada 0,05 Molar atau 0,6 Molar larutan garam. Derajat keasaman (pH) optimal untuk pertumbuhan *Helicobacter pylori* adalah antara 5,8 sampai 6,9. Penambahan urea (pada konsentrasi 100 mili Molar dan 5 mili Molar) dengan 0,15 larutan garam akan mengurangi ketahanan hidup *Helicobacter pylori*. Penambahan albumin 1 % (misalnya serum domba), atau gelatin 1 % menghasilkan waktu keterbatasan hidup yang bervariasi jika dibandingkan dengan

penambahan air garam saja. Inkubasi dalam suasana mikroaerofilik dapat memperpanjang ketahanan hidup *Helicobacter pylori* (West, et. al., 1992).

Helicobacter pylori dapat tumbuh pada keberadaan glisin sebesar 0,5 % dan triphenyltetrazolium chloride (TTC) sebesar 0,04 %. Tidak bisa tumbuh pada keberadaan 3,5 % NaCl (Holt, et. al., 1994).

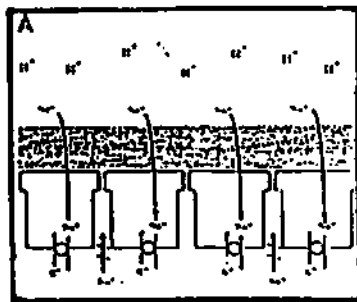
Helicobacter pylori mengoksidasi asam askorbat. Hal ini bisa dideteksi dengan metode kromatografi yang dikombinasikan dengan deteksi elektrokimia. Dengan metode filtrasi gel, aktivitas oksidasi berderajat absorbansi sebesar 408 nm dan berat molekulnya kurang lebih 14.000. Diduga, aktivitas oksidasi ini disebabkan oleh adanya sitokrom C (Odum dan Andersen, 1995).

Helicobacter pylori memproduksi zat yang bersifat sebagai kemoatraktan. Kemoatraktan itu stabil pada pemanasan dengan penangas air (*water bath*) selama 15 menit, tetapi aktivitasnya hilang setelah dilakukan penambahan asam atau zat yang bersifat alkalis. Faktor kemoatraktan itu berberat molekul kurang lebih 8500 Dalton (Reymunde, et. al., 1993).

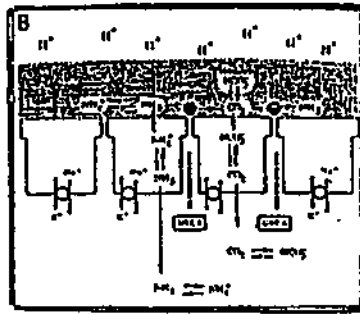
Urease bagi *Helicobacter pylori* adalah sebagai antigen, dan sebagai faktor yang penting dalam kolonisasi serta virulensi. Beberapa studi yang mengindikasikan perbedaan efek kation-kation yang dibutuhkan serta dapat menstabilkan aktivitas urea dalam air terdiri atas : 1, 5 atau 10 miliMolar Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , Na^+ , EDTA atau EGTA (ethylene glycol-bis (beta amino ethyl ether) -N, N,N',N'-tetra acetic acid) mempunyai efek yang kecil. Kebalikannya, 1 miliMolar Fe^{3+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , atau Zn^{2+} , menghambat aktivitas sebesar

80%, sedangkan 10 miliMolar Fe^{2+} , Mn^{2+} , dan Ni^{2+} menghambat aktivitas sebesar 30 %. Penambahan Ca^{2+} , atau Mg^{2+} mengakibatkan penurunan ekstraksi urea dari sel-sel *Helicobacter pylori* dalam air, tetapi 1 miliMolar Na^+ , K^+ , EGTA atau EDTA mengindikasikan kation divalen mempunyai jalur perlekatan urease pada sel-sel *Helicobacter pylori* (Perez, et. al., 1994).

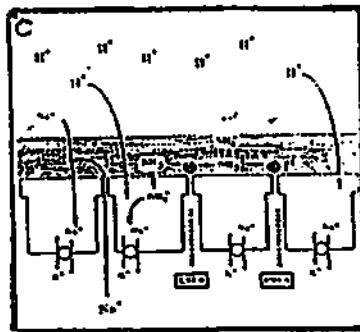
Pada lambung normal, lapisan mukosa mempunyai mekanisme sebagai barier untuk H^+ . Mekanisme tersebut dikombinasikan dengan karakteristik pergantian ion pada gel mukosa dan muatan positif epitel permukaan. Mekanisme ini termasuk pembentukan gradien Na^+ yang dapat melalui mukosa dengan cara : Na^+/K^+ -ATP asebergantung secara tidak langsung pada jalur Na^+ , kemudian diikuti peranan pH (bergantung anionik) dengan memblok muatan Na^+ dari lapisan submukosa pada lumen lambung. Berikut gambar serta keterangan secara sistematis proses-prosesnya :



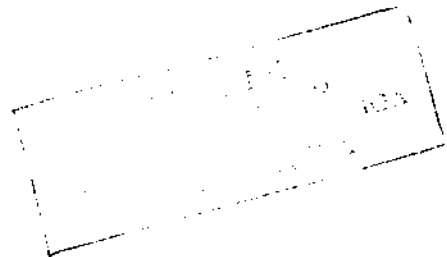
Gambar 2. 3 :Saat epitel lambung terkolonisasi dengan *Helicobacter pylori* .



Gambar 2. 4 : Aktivitas urea pada bakteri. Urease akan menginduksi pengeluaran urea melewati lapisan mukosa , meningkatkan pH lokal lambung, dan meningkatkan konsentrasi amonia/ amonium pada epitel permukaan. Peristiwa ini menginduksi urease (*dependent hidrogen ion back diffusion*).



Gambar 2. 5 : Na⁺ menyeberang mukosa dengan menghancurkan Na⁺ bergantung muatan permukaan. NH₄ menginduksi pergantian ion pada lapisan mukosa dan NH₄⁺/NH₃ tak berpasangan dengan Na⁺/ATP ase. Semua memfasilitasi proses difusi balik (*back diffusion*) ion H⁺ (Hazell, 1990).



2.4 Cara penyebaran *Helicobacter pylori* .

Helicobacter pylori sebegitu jauh tidak pernah ditemukan diluar tubuh manusia. *Helicobacter pylori* ditularkan dari satu penderita ke penderita yang lain kemungkinan besar lewat cara oral-oral atau fekal-oral. Terjadinya penularan *Helicobacter pylori* melalui cara fekal-oral menurut Marshall adalah

ditemukannya bakteri tersebut dalam tinja anak yang terserang diare dan juga pada tinja orang dewasa yang terkena *Helicobacter pylori*. Faktor resiko terjadinya infeksi adalah lingkungan sosio-ekonomi, dimana lingkungan kumuh dan pemukiman penuh sesak mempermudah terjadinya penyebaran mikroba semasa kanak-kanak. Bahkan kemungkinan besar infeksi *Helicobacter pylori* pada orang dewasa sudah terjadi semasa kanak-kanak. Namun demikian, hal ini tidak menyingkirkan kemungkinan orang dewasa tertular *Helicobacter pylori* oleh anaknya sendiri yang mendapatkan infeksi diluar rumah (Mitchell, 1992). Pada negara berkembang sering terjadi karena mengkonsumsi makanan atau air yang terkontaminasi kotoran atau tinja manusia. Dari 133 orang berkebangsaan Swedia dengan seronegatif *Helicobacter pylori* berpindah tempat menuju negara berkembang, selama kurun waktu 16, 4 tahun 102 diantaranya paling sedikit pernah menderita penyakit gastroenteritis (Lindkvist, et. al., 1995).

Yang menarik untuk disimak adalah tingginya angka prevalensi infeksi *Helicobacter pylori* pada para ahli endoskopi. Penularan dalam hal ini mungkin melalui alat endoskop yang terkontaminasi *Helicobacter pylori* dari penderita. Di beberapa negara seperti Peru penularan dapat terjadi dari sumber air minum yang tercemar. Tetapi air minum sebagai sumber penularan *Helicobacter pylori* masih belum ada konfirmasi dari studi-studi lain.

Kalau diperkirakan sumber mikroba adalah manusia saja, maka penularan mikroba *Helicobacter pylori* hanya bisa terjadi bila mikroba tersebut meninggalkan lingkungan terlindung di mukus lambung masuk ke cairan lambung, saliva, karang gigi atau tinja, tergantung dari jalur penularannya (Lee, 1993).

Studi begitu jauh menunjukkan bahwa epidemiologi *Helicobacter pylori* lebih mudah diisolasi dari mulut daripada tinja. Hal ini kemungkinan besar banyak disebabkan oleh karena kesukaran teknik untuk mendeteksi mikroba tersebut di dalam tinja. Namun penularan melalui kedua jalur tersebut diatas dapat terjadi tergantung dari umur dan keadaan lingkungan. Misalnya penularan antar remaja di dunia maju kemungkinan besar adalah oral-oral, sedangkan pada anak-anak di negara berkembang jalur penularan fekal-oral lebih lazim (Djajapranata, 1995). Namun Nowotny dan Heilmann (1990) menyatakan bahwa pada populasi masyarakat perkotaan dan pedesaan, bangsa, status sosio-ekonomi, perumahan dan suplai air minum. Tidak ada korelasi dengan suplai air minum, sehingga mengindikasikan bahwa transmisi *Helicobacter pylori* adalah secara oral-oral, atau secara kontak fisik. Sedangkan pada pendataan 245 pasien di Rumah Sakit Anak Arkansas, diperoleh informasi bahwa rata-rata kemampuan infeksi *Helicobacter pylori* seiring dengan meningkatnya umur. Dan ada kecenderungan lebih banyak pada orang berkulit hitam dibanding yang berkulit putih (Fiedorek, et. al., 1988).

2.5 Air Kran Ditambah Urea, Air Limbah Domestik dan Air Sumur .

Air merupakan zat yang mutlak bagi setiap makhluk hidup, dan kebersihan air adalah syarat utama bagi terjaminnya kesehatan. Menurut Suriawiria (1993) air merupakan substrat yang paling parah akibat pencemaran. Berbagai jenis pencemar baik yang berasal dari sumber domestik dan sumber non domestik banyak memasuki badan air. Secara langsung atau tidak langsung pencemar tersebut akan berpengaruh terhadap kualitas air.

Disamping air tanah, air minum dapat diperoleh dengan pengolahan air sungai yang terdekat dan mengalirkannya melalui serangkaian proses. Mula-mula air sungai dialirkan melalui saringan kasar yang dapat menyingkirkan bahan kotoran dengan ukuran besar, kemudian masuk ke rumah pengukur untuk mencatat isi atau jumlah volume air dan kecepatan alirnya. Air kemudian dipompa ke atas, masuk ke dalam kolam tandon melalui tahap aerasi (pancuran pengudaraan). Selanjutnya dialirkan melalui penyaring mikro untuk menapis lumpur dan endapan, dan klor dibubuhkan pada saluran menurut dosis yang telah ditentukan. Air yang telah diklorinasi dimasukkan dalam kolam pencampur baru kemudian dialirkan ke rumah-rumah pemakai air minum (Winarno, 1986).

Beragam-zat kimia seperti ozon, klor, kloroksida dan proses fisik seperti penyinaran ultra-violet, pemanasan dan lain-lain, digunakan untuk desinfeksi air. Dari beragam-zat kimia yang disediakan di atas, klor adalah zat kimia yang sering dipakai karena mempunyai daya desinfeksi sampai beberapa jam setelah pembubuhannya (residu klor). Selain dapat membasmi bakteri, klor juga dapat mengoksidasi ion-ion seperti Fe^{2+} , Mn^{2+} , dan memecah molekul organik seperti warna. Selama proses tersebut, klor sendiri direduksi sampai menjadi klorida yang tidak mempunyai daya desinfeksi. Disamping klor juga bereaksi dengan amonia (Alaerts dan Santika, 1987).

Reaksi klorin dengan amonia penting artinya dalam proses klorinasi air untuk desinfektasi. Bila klorin ditambahkan ke dalam air yang mengandung amonia (ion amonium terdapat dalam keseimbangan dengan amonia dan ion hidrogen). Selain itu klorin juga bereaksi bahan organik yang mengandung nitrogen, misalnya protein dan asam amino sehingga membentuk kompleks kloramin (Winarno, 1986).

Pada umumnya, kadar N-Nitrat semua titik sampel air perpipaan masih berada di bawah standard yang berlaku (lebih kecil dari 10 mg/l), begitu pula dengan 2 dari 4 titik sampel air sungai, masih berada di bawah konsentrasi maksimal yang diperbolehkan yaitu 45 mg/l seperti yang dianjurkan *International Drinking Water Standard / iDWS* (Soemirat dan Ardiana, 1991). WHO merekomendasikan air minum sehat mengandung klor 250 mg/l, sulfat 400 mg/l, sodium 200 mg/l, besi 0,3 mg/l, mangan 0,1 mg/l,

aluminium 0,2 mg/l, seng 5 mg/l. Berikut tabel komposisi air minum sehat yang direkomendasikan oleh World Health Organization/ WHO:

Tabel 2. 3 : Komposisi Air Sehat Menurut WHO.

Parameter	Nilai Normal
Panas (TCU)	15
Rasa	Tidak ada
Turbiditas (NTU)	5
PH	6,8-8,5
Pelarut (mg/l)	1000
CaCO ₃ (mg/l)	500
Sulfat (mg/l)	400
Hidrogen Sulfid	Tidak terdeteksi
Sodium (mg/l)	200
Iron /besi (mg/l)	0,3
Mangan (mg/l)	0,1
Aluminium (mg/l)	0,2
Copper/ tembaga (mg/l)	1
Zinc/ seng (mg/l)	5
Arsenicum (mg/l)	0,05
Cadmium (mg/l)	0,005
Chromium (mg/l)	0,05
Sianida (mg/l)	0,1
Fluoride (mg/l)	1,5
Lead (mg/l)	0,05
Merkuri (mg/l)	0,001
Nitrat (mg/l)	45
Selenium (mg/l)	0,01
Aldrin (mikro-g/l)	0,01
Benzene (mikro-g/l)	10
Benzo(a)pyrene (mikro-g/l)	0,01
Carbon Tetrachloride (mikro-g/l)	3
Chlordane (mikro-g/l)	0,3
Chloroform (mikro-g/l)	30
2,4 D (mikro-g/l)	100
DDT (mikro-g/l)	1
1,2 dichloroethene (mikro-g/l)	10
1,1 dichloroethene (mikro-g/l)	0,3
Heptachlor dan Heptachloroepoxide	0,1
Gamma-HCH (mikro-g/l)	30
Methoxychlor (mikro-g/l)	10
Pentachlorophenol (mikro-g/l)	10
Tetrachloroethene (mikro-g/l)	10
Trichloroethene (mikro-g/l)	30
2,4,6 Trichlorophenol (mikro-g/l)	10

(Rump dan Krist, 1992)

Pada negara berkembang, dimana arus perpindahan (urban) masyarakat cukup tinggi, sering ditemukan penggunaan sumur yang tidak

benar. Jarak, kedalaman serta tata saluran (pipa) air yang saling berhubungan. Konstruksi tempat pembuangan serta penyimpanan kotoran manusia (*septic tank*) seringkali berdekatan dengan lokasi pengambilan air untuk dikonsumsi (Lindh, 1983). Dengan demikian, pada air sumur kemungkinan untuk terjadinya pencemaran /kontaminasi dari sumber atau saluran air lain sangat tinggi.

Untuk menentukan tingkat pencemaran badan air, biasanya digunakan metode kimiawi. Disamping itu dapat juga dipakai metode biologis. Metode Belgian Biotic Indeks (BBI) adalah salah satu bentuk pengembangan metode biologis, seringkali metode ini dilengkapi dengan Chemical Indeks (CI) (Widiadi, 1993). Selama air limbah mengalir di dalam saluran terjadi proses fisik, kimia dan biologi secara alamiah yang dapat mengurangi beban pencemaran umumnya dihubungkan dengan BOD (Biological Oxygen Demand). Sedangkan proses pengurangan bebannya disebut *self purification*. Sehubungan dengan kandungan BOD dalam air limbah, *self purification* dalam hal ini berkenaan dengan pengurangan material organik. Pengurangan ini terjadi karena proses biokimiawi dalam bentuk pengurangan material organik oleh mikroba (Setiadi, 1994).

Peningkatan logam berat toksik dalam air limbah seiring dengan tingkat kerusakan air. Proses daur ulang dengan pengeluaran ion-ion Hidrogen dalam air dengan konsentrasi logam berat 38 % tembaga, dan 125 % Cadmium (Verma, et. al., 1990). Untuk lebih jelasnya, berikut ini adalah tabel komposisi air limbah :

Tabel 2. 4 : Konsentrasi substansi toksik yang menyebabkan terhambatnya proses biologi dalam air limbah domestik

Substansi Toksik	Konsentrasi
Copper/ Tembaga	1-3
Chromium-III	10-20
Chromium-IV	2-10
Cadmium	3-10
Zinc/ Seng	3-20
Nikel	2-10
Kobalt	2-15
Sianida	0,3-2
Hidrogen Sulfid	5-30

Tabel 2. 5 : Komposisi Limbah Domestik

Substansi Toksik	Kontaminasi Berat (mg/l)	Kontaminasi Sedang (mg/l)	Kontaminasi Ringan (mg/l)
Total	1000	500	200
Sedimen	12	8	4
BOD	360	200	100
COD	800	600	400
Total Nitrogen	85	50	25
Amonia	30	30	15
Klorida	175	100	15
Alkalinitas	200	100	50
Minyak dan Lemak	40	20	0

(Rump dan Krist, 1992)

Chemical Oxygen Demand (COD) adalah jumlah Oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi zat-zat organik yang ada dalam satu liter sampel air (limbah cair biasanya mengandung klor, tawas, minyak dan bahan pelumas). Angka COD merupakan ukuran bagi pencemaran air oleh zat-zat organik yang secara alamiah dapat dioksidasikan melalui proses mikrobiologis dan mengakibatkan berkurangnya oksigen terlarut di dalam air (Prasodjo, 1991).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL & HIPOTESIS PENELITIAN

3.1. Kerangka Konseptual

Sejak laporan Warren dan Marshall pada tahun 1984 tentang hubungan antara infeksi *Helicobacter pylori* dengan gastritis kronis, penelitian mengenai mikroba ini berkembang pesat di seluruh dunia. Pengetahuan yang lebih dalam tentang mikroba ini telah mengubah konsep patofisiologi gastritis serta tukak peptik, sebab kolonisasi *Helicobacter pylori* ternyata merupakan penyebab utama timbulnya gastritis dan tukak peptik. Bahkan infeksi kronis yang menahun oleh *Helicobacter pylori* dapat menjadi salah satu penyebab timbulnya kanker lambung (Marshall, 1991).

Pada saat ini memang ada beberapa teori penularan yang diajukan. Mekanisme yang pasti mengenai transmisi *Helicobacter pylori* masih belum jelas. Ada beberapa pendapat, yaitu oral-oral, fekal-oral atau melalui perantara makanan (*food borne*) dan perantara air (*water borne/ environmental transisstor*) (Hopkins dan Morris, 1994). Terjadinya penularan fekal-oral yang selama ini paling banyak dikemukakan oleh para ahli didukung oleh fakta bahwa *Helicobacter pylori* ini dapat dibiakkan dari tinja.

Tetapi bagaimana proses penularan *Helicobacter pylori* dari tinja kepada orang lain yang rentan masih menjadi tanda tanya. Sangat menarik bahwa banyak penelitian yang menunjukkan tidak adanya hubungan antara penularan infeksi dengan sumber air yang dikonsumsi manusia. Hal ini memberikan kesan bahwa air bukanlah pembawa (*vehicle*) yang penting untuk penularan infeksi *Helicobacter pylori* (Soewignjo, 1995).

Penelitian tentang mekanisme penularan *Helicobacter pylori* pada manusia sangat sulit disebabkan karena bakteri ini hanya dapat hidup baik pada kondisi mikroaerofilik, pada kondisi aerob bakteri ini akan segera mati dalam waktu singkat (Tomkins, dalam Rathbone dan Heatley, 1989). Sehingga pada penelitian ini diperlukan keadaan tertentu tanpa merubah sifat – sifat *Helicobacter pylori*, dalam Jekti (1996) disebutkan bahwa pemakaian mencit Balb/ C sebagai hewan coba hasilnya sangat baik. Dipakainya mencit Balb/ C sebagai hewan coba dirasakan beberapa peneliti sangat efektif karena selain relatif tidak mahal, juga penanaman /penginokulasian *Helicobacter pylori* didalamnya, bila kemudian diambil kultur tinjanya, sifat *Helicobacter pylori* hasil kultur tidak berubah. Oleh karena itu dalam penelitian ini dipakai Mencit Balb /C untuk menstabilkan sifat-sifat *Helicobacter pylori* sebagai bakteri uji.

Namun demikian, penularan *Helicobacter pylori* pada manusia masih belum jelas, meskipun dugaan kuat adalah fekal – oral. Pada negara – negara berkembang, dihubungkan dengan makanan atau air yang terkontaminasi tinja manusia atau hewan (Lindkvist et.al., 1995).

Hazell (1992) menyatakan bahwa transmisi *Helicobacter pylori* dapat terjadi baik melalui kontak langsung maupun tidak langsung. Pendapat ini diperkuat dengan keberhasilan isolasi *Helicobacter pylori* dari tinja, dental plaque, dan saliva. Selain itu disebutkan pula adanya korelasi antara infeksi *Helicobacter pylori* dengan konsumsi sayur – sayuran yang tidak dimasak. Dinyatakan bahwa sayur – sayuran tersebut terkontaminasi oleh air dari saluran pembuangan. Dengan ini Hazell menarik kesimpulan bahwa air dapat menjadi faktor kunci penyebaran *Helicobacter pylori* dan dapat pula bertindak sebagai salah satu sumber penyebarannya (Hazell, 1992).

Jika dilihat komposisinya, air kran (PDAM) mengandung amonia dan klorin yang penting artinya dalam proses klorinasi air. Ion amonium terdapat dalam keseimbangan dengan amonia dan ion hidrogen (Winarno, 1986). Selain itu air minum juga mengandung kadar N-Nitrat dalam kadar yang bervariasi, standard yang berlaku adalah lebih kecil dari 10 mg/l (Rump dan Krist, 1992). Tetapi karena air kran (PDAM) mengandung klorin yang dapat mengganggu kehidupan *Helicobacter pylori*, maka dalam penelitian ini ditambahkan urea dalam jumlah tertentu. Penambahan urea dikarenakan unsur ini merupakan kebutuhan hidup penting bagi *Helicobacter pylori*. Dalam Rahim (1997) disebutkan bahwa *Helicobacter pylori* memproduksi enzim urease dalam jumlah banyak. Ini merupakan suatu faktor untuk penyesuaian diri terhadap lingkungan asam lambung. Enzim ini memecah urea menjadi amonia (NH₃) dan karbondioksida (CO₂). Adanya amonia atau

urea digunakan sebagai alat untuk mengetahui secara tepat keberadaan *Helicobacter pylori* (Abbas, 1992).

Kandungan amonia dan nitrat dalam Hazell (1990) merupakan salah satu kebutuhan hidup bagi *Helicobacter pylori*. Disebutkan bahwa amonia memegang posisi kunci dalam proses metabolisme *Helicobacter pylori*. dimulai dengan fiksasi nitrogen menjadi bentukan amonia dari senyawa asal urea. Disamping itu, pada air limbah domestik (buangan rumah tangga), dengan berbagai macam derajat kontaminasi, komposisi amonia juga tinggi. Hal ini dimungkinkan karena kontaminasi hasil /buangan kamar mandi yang diantaranya terdapat urine manusia (Rump dan Krist, 1992). Dalam Abbolito et. al., (1992) disebutkan bahwa dalam habitat aslinya (dalam lambung) keberadaan *Helicobacter pylori* sangat berhubungan erat dengan kadar urea. Pada penderita gastritis dengan kadar urea 15 mg/dl dan pH 3,5 ditemukan hubungan yang erat dengan keberadaan *Helicobacter pylori*. Selain itu, dalam air sumur, seringkali terjadi rembesan /kontaminasi dengan air yang berasal dari saluran air limbah domestik (misalnya saluran buangan dari kamar mandi, *septic tank*) ataupun saluran air lain yang akhirnya menjadi kesatuan air terkontaminasi. Dengan demikian air sumur dimungkinkan masih mengandung urea sebagai kebutuhan hidup yang utama bagi *Helicobacter pylori*.

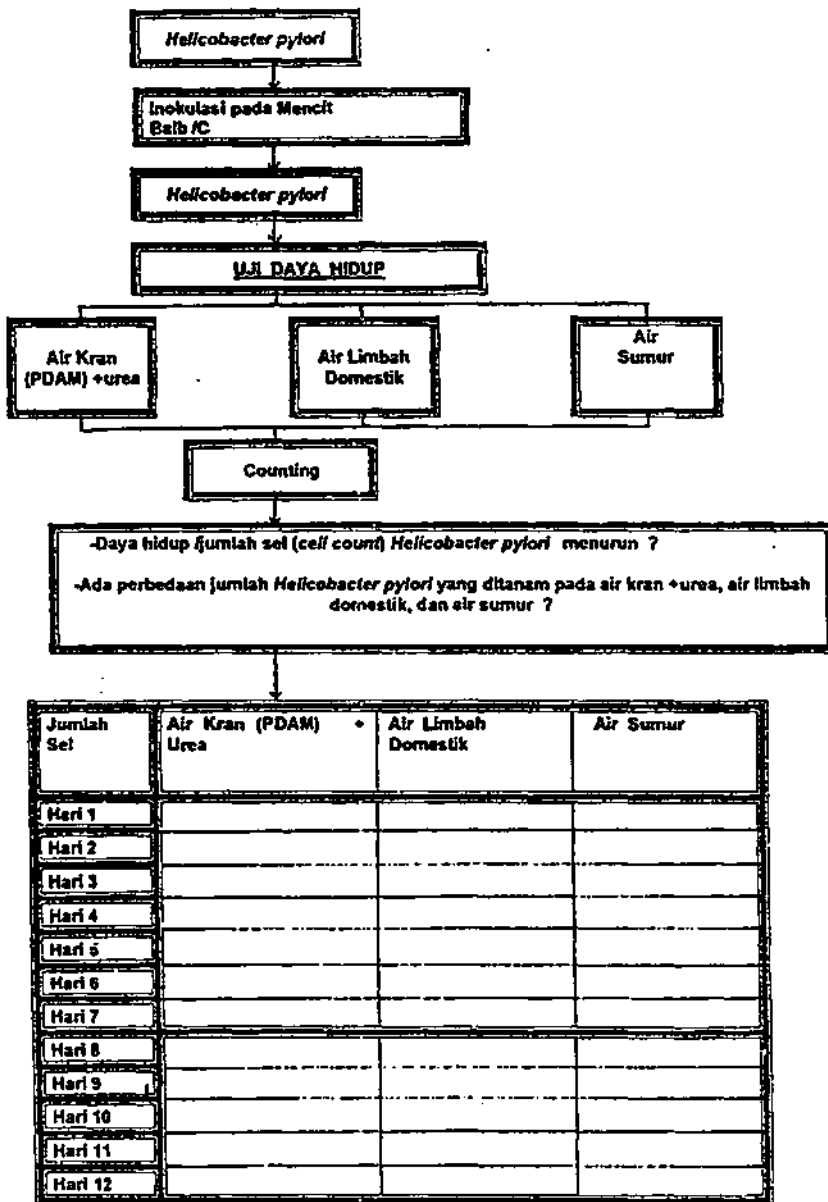
Selain itu, air juga mengandung bermacam-macam senyawa kimia seperti logam dan mineral. Air yang sehat untuk dikonsumsi menurut WHO harus mengandung senyawa –senyawa kimia serta mineral penting (Rump

dan Krist, 1992). Namun biasanya pada limbah domestik ditemukan kontaminasi logam-logam berat dengan kadar/ konsentrasi yang lebih tinggi (Mason, 1991). Sedangkan dalam Perez et. al.,(1994) dinyatakan bahwa *Helicobacter pylori* membutuhkan kation-kation (seperti natrium, kalium, magnesium) dalam menstabilkan aktivitas urea dalam air. Hal ini berhubungan erat dengan mekanisme pergantian ion pada gel mukosa dan muatan positif epitel permukaan lambung (sebagai habitat asli *Helicobacter pylori*) (Hazell, 1990).

Berbagai komposisi air serta pengaruhnya seperti disebutkan di atas bila dihubungkan dengan kebutuhan untuk pertumbuhan suatu bakteri seperti *Helicobacter pylori* saling berkaitan, meskipun secara mikrobiologi, sifat *Helicobacter pylori* yang sangat rentan (*fastidious*), masih menjadi tanda tanya. Dengan demikian, studi epidemiologi serta rute transmisi /cara penyebaran bakteri ini perlu ditelaah kembali.

Meskipun sampai sekarang *Helicobacter pylori* tidak ditemukan dalam keadaan hidup dalam air / tanah, namun penelitian di Peru melaporkan bahwa air merupakan salah satu faktor yang penting dalam penularan *Helicobacter pylori* pada anak – anak. Pada studi eksperimen ternyata *Helicobacter pylori* dapat hidup dalam air dan makanan dingin untuk beberapa hari. *Helicobacter pylori* diduga mempunyai bentuk non spiral yaitu berbentuk kokoid yang dapat bertahan hidup dalam air segar sampai satu tahun (West , 1990). Namun untuk lebih jelasnya butuh penelitian yang lebih lanjut.

Dengan demikian, kesan bahwa air minum bukanlah pembawa (*vehicle*) yang penting untuk pemindahan infeksi *Helicobacter pylori* masih perlu dipelajari dan dikaji ulang lebih mendalam, guna menambah informasi ilmiah mengenai epidemiologi serta rute transmisi / penularan *Helicobacter pylori*.



Gambar 3.1 : Bagan Kerangka Konseptual

3.2. Hipotesis Penelitian.

1. Daya hidup / jumlah sel (*cell count*) *Helicobacter pylori* menurun pada penanaman (inokulasi) di air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur .
2. Ada perbedaan dalam jumlah *Helicobacter pylori* yang hidup di air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik dan air sumur pada pengamatan dua belas hari.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis Penelitian.

Jenis penelitian yang digunakan untuk mengetahui daya hidup *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur adalah eksperimen murni (sungguhan) dengan syarat adanya replikasi, randomisasi dan kontrol.

4.2. Rancangan Penelitian

"Design" penelitian ini menggunakan rancangan faktorial *Post Test Only Control Group Design* dengan dua faktor, pada taraf uji 0,05 . Faktor pertama adalah macam air ; meliputi air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur. Faktor kedua adalah waktu (dalam dua belas hari) uji daya hidup *Helicobacter pylori* berlangsung. Ulangan dilakukan sebanyak lima kali (Hanafiah, 1991).

Rumus pengulangan :

$$(p-1) (q-1) \geq 15$$

Keterangan : P = Perlakuan
 q = Ulangan

Tabel 4.1: Rancangan Penelitian untuk data pengamatan

A	B	ULANGAN				TOTAL
		1	2	3	N	
1	1	Y_{111}	Y_{112}	Y_{113}	Y_{11n}	$Y_{11\cdot}$
	2	Y_{121}	Y_{122}	Y_{123}	Y_{12n}	$Y_{12\cdot}$
	-					
	B	Y_{1b1}	Y_{1b2}	Y_{1b3}	Y_{1bn}	$Y_{1b\cdot}$
2	1	Y_{211}	Y_{212}	Y_{213}	Y_{21n}	$Y_{21\cdot}$
	2	Y_{221}	Y_{222}	Y_{223}	Y_{22n}	$Y_{22\cdot}$
	-					
	B	Y_{2b1}	Y_{2b2}	Y_{2b3}	Y_{2bn}	$Y_{2b\cdot}$
a	1	Y_{a11}	Y_{a12}	Y_{a13}	Y_{a1n}	$Y_{a1\cdot}$
	2	Y_{a21}	Y_{a22}	Y_{a23}	Y_{a2n}	$Y_{a2\cdot}$
	-					
	B	Y_{ab1}	Y_{ab2}	Y_{ab3}	Y_{abn}	$Y_{ab\cdot}$

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$i = 1, 2, \dots, a$
 $j = 1, 2, \dots, b$
 $k = 1, 2, \dots, n$

Keterangan :

Y_{ijk} : hasil/nilai pengamatan untuk faktor A level ke i , faktor B level ke- j dan pada ulangan ke- k .

μ : Nilai tengah umum.

α_i : Pengaruh faktor A pada level ke- i

β_j : Pengaruh faktor B pada level ke- j

$(\alpha\beta)_{ij}$: interaksi AB pada level ke- i , level ke- j

ϵ_{ijk} : Galat percobaan untuk level ke- i (A), Level ke- j (B), ulangan ke- k .

4.3. Tempat dan Waktu Penelitian

4.3.1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit dr. Saiful Anwar (RSSA) Malang. Bahan dasar isolat bakteri diperoleh dari Unit Riset Laboratorium Biomedik Mataram. Sedangkan analisis komponen air secara kimiawi dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan, Surabaya.

4.3.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dimulai pada bulan September sampai Desember 1998 yang meliputi tahap persiapan, uji pendahuluan dan pelaksanaan.

4. 4. Sampel Penelitian

Sampel air yang digunakan ada tiga macam, yaitu air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur. Air kran (PDAM) diambil dari Perusahaan Daerah Air Minum (PDAM) di Jagir, Surabaya. Setelah itu dilakukan penambahan unsur urea (konsentrasi penambahan unsur urea telah ditentukan sebelumnya). Air sumur dan air limbah domestik (rumah tangga) diambil di daerah yang telah ditentukan yaitu sebuah sumur dan selokan rumah penduduk di daerah Jagir, Surabaya.

Sedangkan analisis air dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan, Surabaya.

Sampel bakteri (dalam hal ini *Helicobacter pylori*) yang digunakan adalah isolat Mataram, diambil dari Unit Riset Biomedik, Mataram. Untuk pemeliharaan bakteri tersebut (agar sifatnya tidak berubah) maka dilakukan penanaman /inokulasi bakteri dalam Mencit Balb/ C.

4.5. Variabel Penelitian

4.5.1. Variabel Tergantung (*Dependent*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya hidup *Helicobacter pylori* / jumlah sel bakteri (*cell count*) pada saat uji daya hidup dilakukan.

4.5.2. Variabel Bebas (*Independent*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah macam air dan waktu.

4.5.3. Variabel Moderator

Variabel moderator dalam penelitian ini adalah suhu dan derajat keasaman (pH).

4.5.4. Variabel Kendali (*Control*)

Variabel kendali pada penelitian ini adalah pelaksanaan uji dalam batasan waktu tertentu.

4.6. Definisi Operasional Variabel

4.6.1. Variabel Tergantung (*Dependent*)

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah daya hidup *Helicobacter pylori* / jumlah sel bakteri (*cell count*) yang hidup pada macam-macam air, yang dinyatakan sebagai CFU/ ml. Untuk mengetahui CFU/ml tersebut diketahui dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada medium uji. Skala pengukuran yang dipakai adalah skala interval.

4.6.2. Variabel Bebas

Variabel Bebas (*Independent*) Variabel bebas dalam penelitian ini adalah macam air dan waktu. Air yang digunakan ada tiga macam, terdiri dari air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur. Air kran (PDAM) diambil dari Perusahaan Air Minum (PDAM) di Jagir, Surabaya. Setelah itu dilakukan penambahan unsur urea (konsentrasi penambahan unsur urea telah ditentukan sebelumnya). Air limbah domestik (buangan rumah tangga) adalah air yang diambil dari selokan dan air sumur adalah air yang diambil dari sebuah sumur rumah penduduk di daerah Jagir, Surabaya. Adapun waktu yang digunakan selama uji ketahanan hidup berlangsung adalah selama dua belas hari.

4.6.3. Variabel Moderator

Variabel moderator dalam penelitian ini adalah suhu dan derajat keasaman (pH). Guna mengoptimalkan pertumbuhan bakteri uji (*Helicobacter pylori*) maka suhu dan pH dikondisikan sama, yaitu pada suhu dan pH optimal bagi *Helicobacter pylori* (suhu 37 °C dan pH 7).

4.6.4. Variabel Kendali

Variabel kendali dalam penelitian ini adalah dilakukannya percobaan ini dalam satu waktu yang sama. Jadi dalam setiap perlakuan macam air yang diuji harus satu kali sampai selesai, tidak boleh dilakukan terpisah dalam tempat dan waktu yang tidak sama.

4.7. Bahan dan Alat Penelitian

4.7.1. Bahan Penelitian

Biakan murni *Helicobacter pylori* sebanyak 4 tabung isolat yang diperoleh dari Unit Riset Biomedik Mataram.

Media yang digunakan untuk isolasi *Helicobacter pylori* adalah Columbia Agar Base Oxoid CM 391 dengan tambahan 7% darah kambing dan suplemen Skirrow Oxoid SR 069 E (Rathbone dan Heatley, 1992). Media cair yang digunakan untuk media transpor, subkultur dan perbanyakan adalah Thioglycollate Broth Oxoid CM 391. Kemudian sebagai medium penyimpanan digunakan Gliserol 10% (Marshall et.al., 1991).

Untuk uji-uji biokimia nitrat, urease, glukosa, manitol, xylosa dan indol digunakan *microbact system 12 E/Diagnostics* yang dilengkapi dengan uji oksidase berupa kertas *oxidase detection strips* (Disposable, 1992).

Uji katalase dilakukan dengan H₂O₂ 3% (Hiroshi et.al, 1976).

Untuk bahan pembiakan tinja mencit digunakan larutan 0,2 M NaHCO₃, (garam fisiologis), juga dipakai Ulfaret dan Amphotericin B (Marchetti,1995).

Barium Klorida (BaCl₂) dan H₂ SO₄ 1% sebagai bahan untuk membuat standar Mc. Farland (Barium Sulfat) no.1 (Mahon dan Manuselis, 1995).

Untuk pengamatan morfologi digunakan pewarna Gram. Bahan lain yang digunakan adalah aquades, kertas hisap, kertas pembungkus, katalis paladium suhu kamar, Oxoid BR 42, serta gas generating kit Oxoid BR 39 (Bridson, 1991^a).

4.7.2. Alat Penelitian

Pengukuran nilai absorbansi standar Mc. Farland (Barium Sulfat) dilakukan dengan Spektrofotometer (*Spectronic 501 Milton Roy, USA*). Anaerobik jar oxoid Hp 11 untuk menciptakan kondisi mikroaerofilik. Inkubasi dilakukan di dalam inkubator (*tipe B- 50 Memmert, Schawabach*). Digunakan pula neraca Sartorius (*tipe BI 21095002*), Autoclave (*tipe KI-7 Wolf Sanoclave*), dan pH meter .

Mikropipet 5 dan 1000 mikro , pipet tetes, pipet ukur 0,5 ml, pipet ukur 10 ml, cawan petri, pinset runcing, jarum ose ujung runcing, jarum ose ujung bulat, gelas obyek, gelas penutup, tabung reaksi, gelas beaker, erlenmeyer, botol filtrat, bunsen, mikroskop cahaya, penangas air, pengaduk, batang kaca dan penyebar kandang mencit beserta alasnya.

4.8. Prosedur Penelitian

4.8.1. Cara Pengambilan Air dan Analisis Komponen Air

Sampel air yang digunakan adalah air kran (PDAM) yang ditambah urea, air limbah domestik, dan air sumur. Adapun prosedurnya adalah menyiapkan botol-botol steril yang tutupnya terbungkus kertas aluminium. Sebelum dan sesudah pengambilan air bagian mulut botol dipanaskan dan ditutup kembali, selanjutnya ketiga sampel air di atas diukur parameternya meliputi pH, Nitrit (NO_2^-), Nitrat (NO_3^-), Ammonium (NH_4^+), Natrium (Na), Chlorida (Cl), Timbal (Pb) dan Seng (Zn). Analisis air tersebut dilakukan sebelum dan sesudah penelitian uji daya hidup dilakukan (pada hari pertama dan pada hari ke -12)

4.8.2. Pemilihan & Perlakuan pada Mencit Balb / C (sehat) Dengan Pembiakan Tinja.

Mencit Balb/C sehat diperoleh dari Pusat Veterinaria Farma, Surabaya. Sebelum perlakuan, mencit ditempatkan dalam kandang berukuran panjang 47 cm, lebar 17 cm dan tinggi 12 cm. Ram digunakan sebagai alas kandang, agar tinja mencit dapat diperoleh secara terpisah.

Mencit sehat yang akan diinokulasi *Helicobacter pylori* sebelumnya diberi 0,25 ml larutan 0,2 M NaHCO_3 secara oral guna menetralkan asam lambung. Selanjutnya mencit diinokulasi dengan 10^9 CFU/ml *Helicobacter pylori* dalam 330 mikroliter garam fisiologis. Pemberian *Helicobacter pylori* pada mencit dilakukan 3 kali, diberikan selang 2 hari. Mencit yang akan diinfeksi tidak diberi makan selama 24 jam. Adanya kolonisasi *Helicobacter pylori* dapat dideteksi setelah 1-2 minggu diinokulasi (Marchetti et.al.,1995).

Cara mendeteksi ialah dengan membiakkan tinja. Lengkap dengan pengamatan morfologis (bentuk koloni, pemeriksaan mikroskopis perbesaran 1000X dengan pengecatan Gram), serta uji biokimia untuk konfirmasi *Helicobacter pylori*.

Pembiakan tinja ini dilakukan disertai penghitungan jumlah bakteri dalam suspensi dengan cara / metode : tinja yang baru keluar dari anus (dua butir) diambil dengan pinset. Satu gram tinja dilarutkan pada 1 ml larutan garam fisiologis, kemudian diencerkan mulai dari 10^2 , 10^3 , 10^4 , dan 10^5 . Larutan yang telah homogen ditanam pada medium agar darah yang telah

ditambah suplemen Skirrow, Ulfaret dan Amphothericin B, yaitu dengan menuangkan 1 cc larutan yang telah diencerkan, kemudian diratakan dengan batang kaca penyebar (Hadioetomo, 1993).

Selanjutnya dimasukkan dalam anaerobik jar ditambah dengan gas generating kit, aquades 10 cc serta katalis paladium. Anaerobik jar dimasukkan dalam inkubator, dengan suhu 37⁰C selama 2-5 hari. Selanjutnya dilakukan penghitungan koloni yang dapat dihitung berkisar 30-300.

4.8.3. Isolasi *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori dalam tabung isolat diambil menggunakan jarum oose ujung bulat dalam kondisi aseptis. Oose kemudian digoreskan pada media Columbia Agar Base ditambah serum. Biakan dalam cawan petri ditutup, dimasukkan dalam anaerobik jar dengan lebih dahulu memasang gas generating kit dengan menambahkan 10 ml aquades. Katalis paladium suhu kamar dipasang, kemudian anaerobik jar ditutup, dan diinkubasi dengan suhu 37 ° C, 4 hari kemudian dapat dibuka dan diamati (Suata dan Suyasa, 1995).

4.8.4. Uji-uji Biokimia *Helicobacter pylori*

Untuk memastikan *Helicobacter pylori* perlu dilakukan uji-uji biokimia:

1. oksidase, nitrat, glukosa, manitol, xylosa, urease,
2. Indol .
3. katalase.

Uji oksidase. *Helicobacter pylori* yang akan diidentifikasi diambil dengan jarum ose ujung runcing kemudian dioleskan pada kertas oksidase. Kertas oksidase (*oxidase detection strips*) merupakan perangkat pelengkap yang telah tersedia dalam *microbact 12 E* berupa secarik kertas kecil berwarna putih. Setelah beberapa menit diamati perubahan warna menjadi biru yang dikatakan uji positif untuk *Helicobacter pylori*.

Untuk uji nitrat, glukosa, manitol, xylosa, urease dan indol digunakan *microbact 12 E*. Plate *microbact* terbuat dari plastik dengan unsur-unsur berisi medium uji dikeluarkan dengan cara menyobek pembungkus (*sachet*) kertas timah berwarna emas. Setelah *seal* (segel) penutup dibuka ditetesi *Helicobacter pylori* yang sudah diemulsikan dalam 3-6 ml garam fisiologis. Setiap sumur *microbact* ditetesi dengan 100 mikroliter larutan bakteri kemudian *seal* ditutup kembali. *Microbact* dieram dalam inkubator selama 18-24 jam pada suhu 37 ° C. Untuk sumur indol harus ditetesi dengan minyak mineral (2 tetes). Pembacaan *microbact* sebagai evaluasi hasil dilakukan dengan menjumlahkan reaksi positif saja dari tiap kelompok (3 sumur didapatkan 1 angka oktal) dan ditulis di lembar laporan. Nama bakteri dapat dilihat dengan komputer berdasarkan angka oktal tadi (keterangan dan gambar dalam lampiran 2 dan 3) (Disposable, 1992).

Uji katalase dilakukan dengan menggunakan H₂ O₂. Diambil sebuah gelas benda steril lalu ditetesi H₂ O₂ 3 %. Secara aseptis diambil satu ose biakan *Helicobacter pylori* dan dicampur dengan reagen katalase tersebut.

Diamati timbulnya gelembung-gelembung udara dan uji harus positif untuk *Helicobacter pylori* (Hiroshi et.al, 1976).

4.8.5. Pembiakan Ulang *Helicobacter pylori*

Satu oose ujung runcing koloni dari biakan primer diinokulasikan ke dalam botol berisi medium Thioglycollate cair, kemudian botol ditutup dan diinkubasi dalam inkubator suhu 37 ° C selama 32-48 jam.

4.8.6. Pewarnaan Gram

Satu oose ujung bulat koloni dari biakan primer *Helicobacter pylori* disuspensikan pada gelas obyek yang telah diberi satu tetes aquades. Setelah kering sediaan difiksasi di atas nyala api bunsen, setelah itu ditetesi larutan kristal violet. Sediaan dibilas dengan air, kemudian dikeringkan, setelah kering ditetesi larutan Mordan, dibilas air dan dikeringkan. Sediaan ditetesi alkohol 96 % kemudian dibilas air. Setelah kering sediaan ditetesi dengan pewarna safranin. Keberadaan *Helicobacter pylori* ditunjukkan dengan warna merah (Gram negatif) (Mc. Kane dan Kandel, 1986).

4.8.7. Penentuan jumlah Inokulum *Helicobacter pylori* pada Media Uji.

Penentuan jumlah *Helicobacter pylori* per ml yang akan diinokulasikan ke dalam sampel air dilakukan menggunakan standar Mc. Farlands Barium – Sulfat . Standar Mc. Farlands Barium-Sulfat yang digunakan adalah standar nomor 1 , ditentukan jumlah *Helicobacter pylori* yang diinokulasikan ke dalam sampel air adalah 3×10^8 CFU /ml.

Diketahui bahwa standar Mc. Farland (Barium-Sulfat) nomor 1 memiliki komposisi 0,1 ml BaCl₂ 1 %, 9,9 ml H₂ SO₄ 1 % dengan kepadatan bakteri 300 juta/ml (Mahon dan Manuselis, 1995). Pengukuran serapan dilakukan dengan bantuan alat spektrofotometer (spectronic/ turbidometric) yang dinyatakan dalam rapat optis. Semua pengukuran menggunakan spektrofotometer sinar tampak harus dilakukan pada kondisi optimum, yaitu pada panjang gelombang maksimum 578 nm, agar menghasilkan serapan yang optimum (Barron et.al, 1994). Menurut Hadioetomo (1993) sebelum alat tersebut digunakan untuk mengukur sampel, terlebih dahulu harus dikalibrasi dengan tabung yang berisi medium steril (macamnya sama dengan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme yang bersangkutan). Hal ini bertujuan untuk menetapkan 100% T (Transmitan). Setelah dikalibrasi maka kekeruhan sampel biakan dapat dibaca dengan cara meletakkan tabung berisi biakan tersebut kedalam tempat sampel pada alat itu. Melalui penghitungan, nilai % T dapat dinyatakan

sebagai nilai A (Absorbansi) atau OD (Optical Density atau rapat optis) dengan rumus :

$$OD = 2 - \log \% T$$

4.8.8. Uji Daya Hidup *Helicobacter pylori*

Masing-masing sampel air dipipet sebanyak 99 ml dan dimasukkan kedalam botol uji yang telah diberi label. Secara aseptis dipipet 1 ml inokulum *Helicobacter pylori* yang telah diketahui jumlah bakteri /ml dengan pengukuran serapannya memakai spectronic/ turbidometric. Setiap botol ditutup dan di inkubasi dalam suhu 37 ° C . Kemudian dalam setiap empat hari selama enam belas belas hari kemudian, dilakukan pengamatan terhadap daya tahan hidup bakteri ini pada masing-masing sampel air.

4.8.9. Penentuan Waktu Inkubasi Untuk Uji Daya Hidup *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori diinkubasi selama dua belas hari dengan interval waktu pengamatan tiga hari sekali. Inkubasi pada pada kondisi aerob dengan suhu 37 ° C . Kemudian secara aseptis diinokulasikan pada media Colombia Agar Base. Selanjutnya dilakukan pengambilan sampel air yang telah

diinokulasi dengan *Helicobacter pylori* sebanyak 1 ml, kemudian pada keadaan aseptis diinokulasikan pada media Columbia Agar Base.

4.8.10. Analisis Data

Analisis data dalam penelitian ini adalah menggunakan analisis regresi dan analisis varian univariate serta multivariate (dengan memasukkan pH dan komponen parameter air sebagai variabelnya), diikuti uji Scheffe (*Scheffe test*) dan uji F (*F test*).

BAB 5

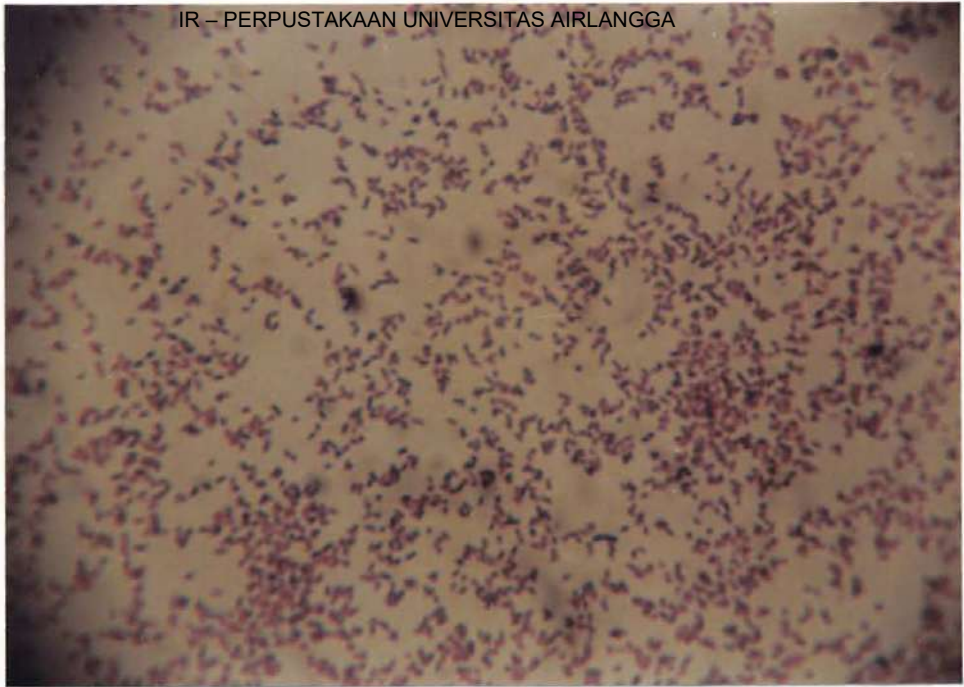
HASIL PENGAMATAN DAN ANALISIS DATA

5.1. Hasil Pengamatan

5.1.1. Morfologi sel dan morfologi koloni *Helicobacter pylori*Tabel 5.1 : Morfologi sel & morfologi koloni *Helicobacter pylori*

Morfologi Sel	Keterangan
Gram	Negatif
Bentuk	Spiral, batang bengkok
Morfologi Koloni	
Bentuk	Tidak beraturan (<i>Irregular</i>)
Tepi	Rata (<i>Entire</i>)
Elevasi	Cembung berlekuk (<i>Convex Rugose</i>)
Ciri Optis	Putih Keruh
Pemukaan	Tembus Pandang (<i>Translucent</i>)
Diameter (cm)	1-3
Tembus cahaya	Tidak tembus cahaya
Tepi koloni	Berlekuk (<i>Lobate</i>)

Namun morfologi sel *Helicobacter pylori* pada hari ke delapan dan duabelas mengalami perubahan menjadi kokus, (bukan spiral atau batang bengkok).



Gambar 5.1 : *Helicobacter pylori* dari tinja mencit Balb / C dengan Pengecatan Gram perbesaran 1000 x

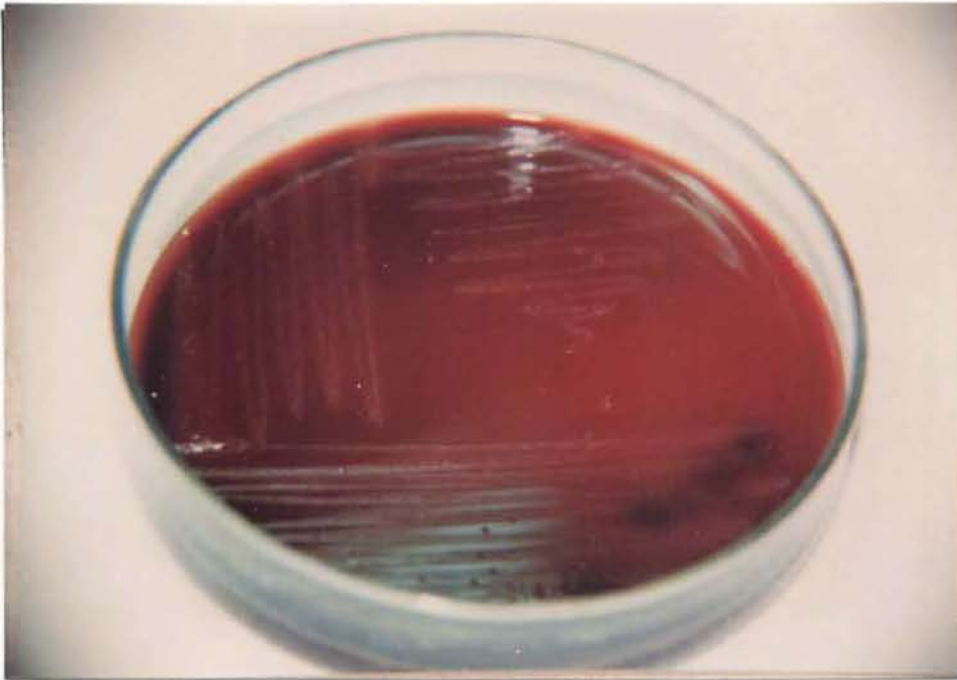
5.1.2. Hasil Uji Biokimia *Helicobacter pylori*

Tabel 5.2 : Uji Biokimia *Helicobacter pylori*

Nama Uji	Reaksi
Oksidase	+ (ungu)
Reduksi Nitrat	-
Glukosa	-
Manitol	-
Xylosa	-
Urease	+ (ungu)
Indol	- (cincin merah)
Katalase	+ (gelembung udara)

Keterangan ; + = Reaksi positif
- = Reaksi negatif





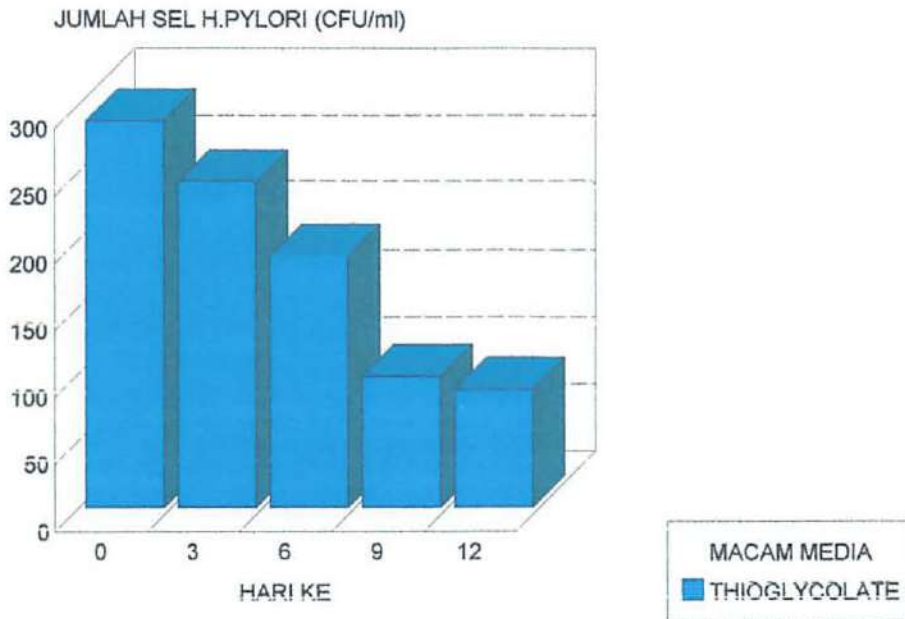
Gambar 5.2 : Koloni *Helicobacter pylori* pada media Blood Agar Plate

5.2. Analisis Data Mengenai Jumlah Sel *Helicobacter pylori* dan Waktu

Penelitian ini dilakukan selama dua belas hari, dan pada setiap tiga hari dilakukan pengamatan. Pemilihan interval waktu tiga hari ini dikarenakan pertumbuhan koloni *Helicobacter pylori* baru tampak memasuki hari keempat. Sesuai teori, pembiakan *Helicobacter pylori* membutuhkan waktu yang lebih lama dibanding bakteri lain, dan untuk itu setidaknya dibutuhkan waktu peneraman selama 4-5 hari (Soewignjo, 1997).

Berikut ini memperlihatkan diagram batang (*barr chart*) yang menggambarkan jumlah sel *Helicobacter pylori* selama pengamatan dua belas hari waktu pengamatan. Untuk mempermudah pengamatan, dipakai diagram batang pada pengamatan masing- masing air (dijelaskan pada halaman 56, 57, 58 dan 59 berikut ini) :

JUMLAH SEL H.PYLORI DALAM MEDIA THIOGLYCOLATE (KONTROL)

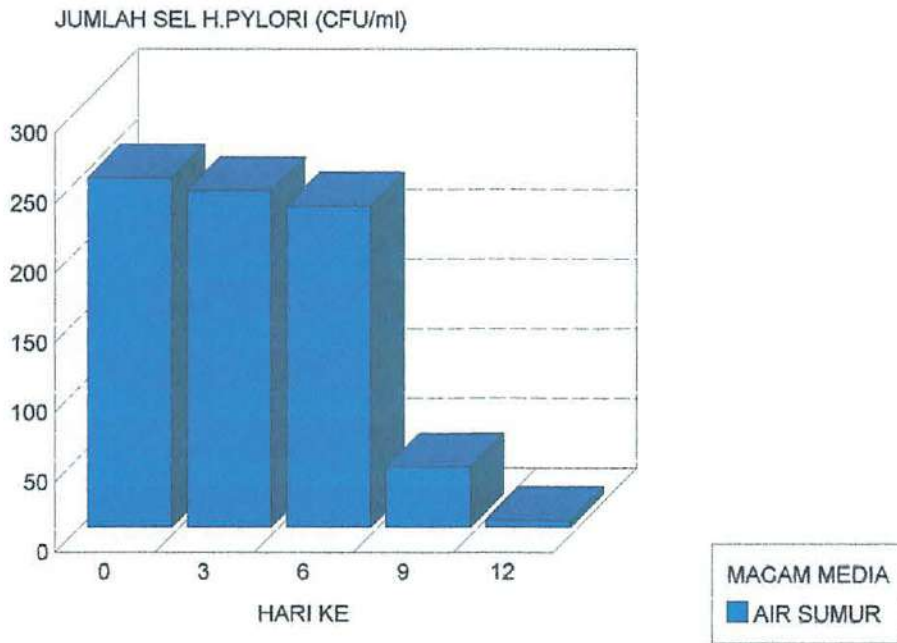


Gambar 5.3. Diagram Batang Jumlah Sel *Helicobacter pylori* Dalam Media Thioglycolate (Kontrol)

JUMLAH SEL H.PYLORI PADA MEDIA THIOGLYCOLATE

PENGAAMATAN PADA	RATA-RATA JUMLAH SEL H.PYLORI
HARI 0	288
HARI 3	247
HARI 6	187
HARI 9	98
HARI 12	88

JUMLAH SEL H.PYLORI DALAM MEDIA AIR SUMUR

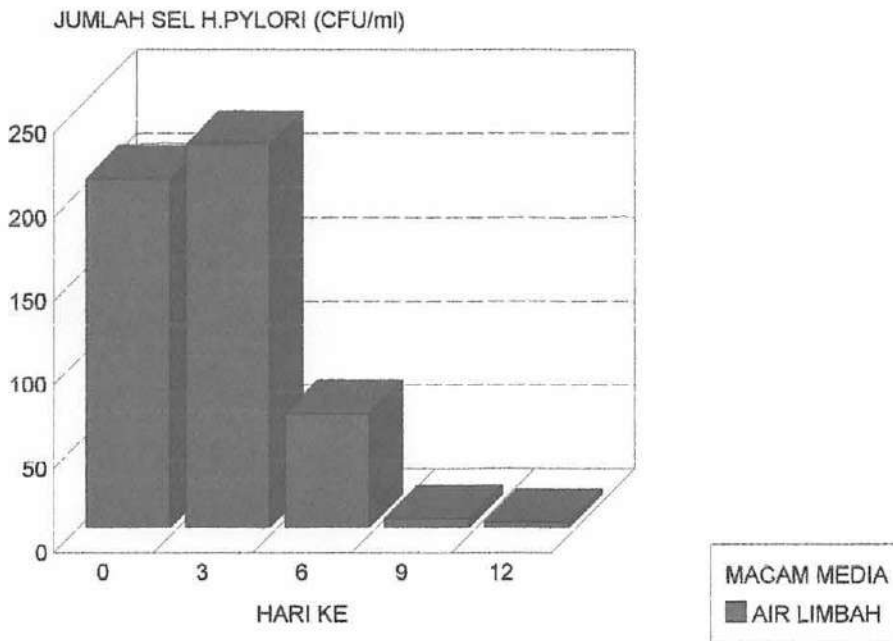


Gambar 5.4. Diagram Batang Jumlah Sel *Helicobacter pylori* Dalam Media Air Sumur

JUMLAH SEL H. PYLORI PADA MEDIA AIR SUMUR

PENGAAMATAN PADA	RATA-RATA JUMLAH SEL H.PYLORI
HARI 0	250
HARI 3	241
HARI 6	230
HARI 9	43
HARI 12	5

JUMLAH SEL H.PYLORI DALAM MEDIA AIR LIMBAH

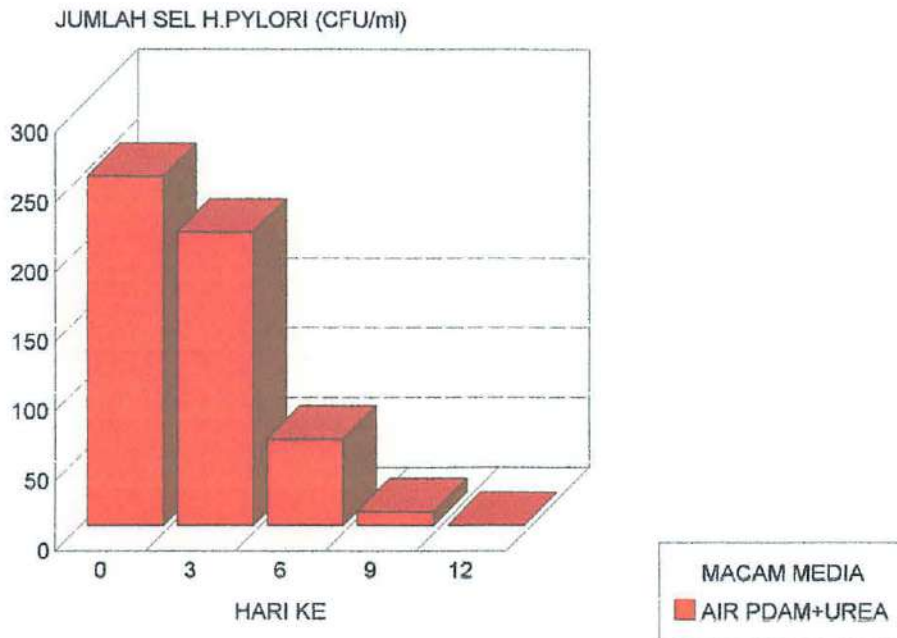


Gambar 5.5. Diagram Batang Jumlah Sel *Helicobacter pylori* Dalam Media Air Limbah Domestik

JUMLAH SEL H. PYLORI PADA MEDIA AIR LIMBAH

PENGAAMATAN PADA	RATA-RATA JUMLAH SEL H.PYLORI
HARI 0	208
HARI 3	228
HARI 6	68
HARI 9	5
HARI 12	3

JUMLAH SEL H.PYLORI DALAM MEDIA AIR PDAM + UREA



Gambar 5.6. Diagram Batang Jumlah Sel *Helicobacter pylori* Dalam Media Air PDAM + Urea

JUMLAH SEL H. PYLORI PADA MEDIA AIR PDAM + UREA

PENGAAMATAN PADA	RATA-RATA JUMLAH SEL H.PYLORI
HARI 0	251
HARI 3	211
HARI 6	62
HARI 9	10
HARI 12	0

Pada diagram batang pertama (halaman 56) yaitu jumlah sel *pylori* pada media Thioglycollate (kontrol) , penurunan jumlah sel *Helicobacter* dari hari pertama adalah sepertujuhnya, jumlah ini relatif stabil dibanding pada ketiga jenis air uji lainnya. Pada ketiga jenis air uji lainnya jumlah sel *Helicobacter pylori* mengalami penurunan drastis dari hari pertama hingga mendekati nol pada hari keduabelas.

Pada diagram batang kedua (halaman 57) yaitu jumlah sel *Helicobacter pylori* pada air sumur. Bila diamati, jumlah sel dari hari pertama, hari ketiga hingga hari keenam, jumlah sel relatif stabil, berkisar 24.000 sel *Helicobacter pylori*. Namun pada hari kesembilan dan keduabelas turun drastis hingga mendekati nol.

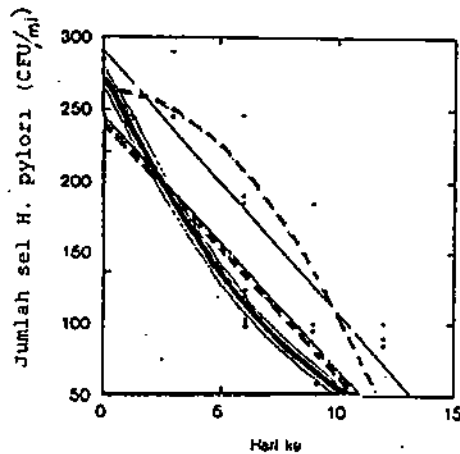
Pada diagram batang ketiga (halaman 58) yaitu jumlah sel *Helicobacter pylori* pada air limbah domestik, didapatkan jumlah sel hari ke nol (0) 20.800 sedangkan hari ketiga 22.800, yang berarti mengalami kenaikan walaupun sedikit. Tetapi pada hari keenam turun drastis menjadi hampir seperempatnya.

Pada diagram batang keempat (halaman 59) yaitu jumlah sel *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) + urea didapatkan jumlah sel yang semakin menurun bahkan pada hari keduabelas tidak ada pertumbuhan sama sekali . Penurunan ini bila dibandingkan ketiga histogram lainnya paling drastis yaitu dengan penurunan jumlah sel *Helicobacter pylori* sekitar seperempatnyapada hari keenam hinga mencapai nol pada hari keduabelas.

Dari diagram batang tersebut diketahui bahwa pada semua macam air yang diamati, termasuk pada media Thioglycollate (kontrol), jumlah *Helicobacter pylori* semakin menyusut atau makin habis selama dua belas hari pengamatan.

Bila dari analisis regresi yang dilakukan diformatkan menjadi grafik, maka dapat dilihat pada masing-masing perlakuan macam air dan media Thioglycollate sebagai kontrol, didapatkan bentuk grafik yang berlainan, meskipun kesemuanya menurun dari arah kiri atas menuju kanan bawah. Pada media cair Thioglycollate (kontrol) jumlah *Helicobacter pylori* paling stabil, bahkan menjelang hari keduabelas masih didapati jumlah bakteri, meskipun dalam jumlah sedikit. Adapun alasan dipilihnya Media cair Thioglycollate sebagai media kontrol adalah karena pada media tersebut *Helicobacter pylori* tumbuh optimal (bila dihubungkan dengan pemenuhan kebutuhan hidupnya, baik nutrisi maupun lainnya). Grafik daya hidup *Helicobacter pylori* pada media Thioglycollate (kontrol) berbentuk linear.

Pada air sumur didapatkan bentuk yang paling spesifik yaitu bentuk kuadrat (*quadratic*) Sedangkan pada air limbah domestik bentuk grafiknya berupa kubik (*cubic*). Bentuk grafik daya hidup *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) + Urea (dari hasil analisis regresi) didapatkan bentuk grafik landai, dari kiri atas ke kanan bawah. Bila grafik – grafik tersebut diformat menjadi satu, hasilnya adalah sebagai berikut :



Gambar 5.7.: Grafik jumlah Sel *Helicobacter pylori* Menurut Waktu Pengamatan Pada Media Thioglycollate, Media Air Sumur, Air limbah Domestik dan Air Kran (PDAM) + Urea.

Keterangan : _____ = Media Thioglycollate (Kontrol)
 ----- = Media Air Sumur
 ===== = Media Air Limbah Domestik
 ===== = Media Air Kran (PDAM) + Urea

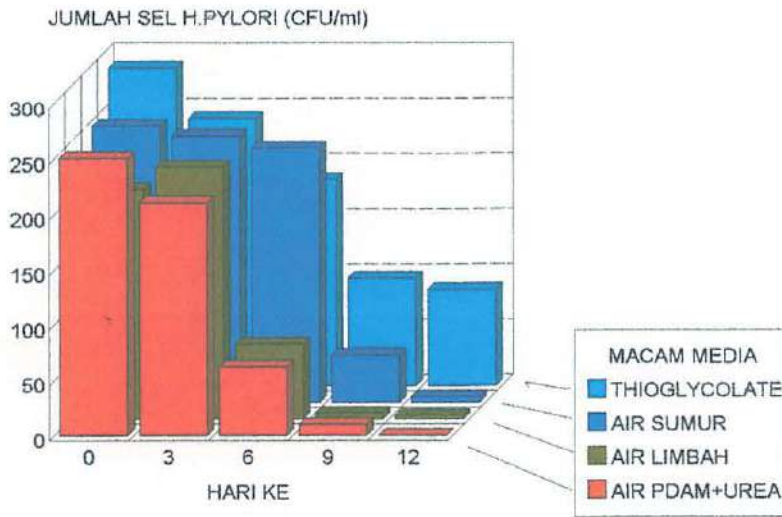
Pada air Kran (PDAM) + Urea dan air limbah domestik, didapatkan tipe daya tahan hidup *Helicobacter pylori* yang hampir sama. Sedangkan pada air sumur didapat jumlah sel dan tipe daya hidup yang berlainan sendiri (berlainan dengan air kran (PDAM) + urea, air limbah domestik serta media Thioglycollate (kontrol)).

Dari analisis regresi dengan taraf uji 0,05 didapat nilai P 0,00 yang berarti signifikan atau berbeda nyata. Hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa daya hidup *Helicobacter pylori* pada ketiga macam air termasuk media Thioglycollate (kontrol), mempunyai perbedaan. Dari hasil analisis varian

didapatkan hasil yang signifikan atau berbeda nyata. Kemudian, analisis ini dilanjutkan dengan uji Scheffe (*Scheffe test*) , untuk menelusuri ada tidaknya perbedaan antar kelompok jenis air dan waktu pengamatan. Hasilnya perbandingan dua kelompok tersebut dimasukkan dalam analisis pengukuran ulang univariate (*univariate Repeated Analysis*) dengan memakai uji F , didapatkan nilai yang hampir sama antara air kran (PDAM) + urea dan air limbah domestik. Sedangkan pada air sumur didapatkan tipe yang berlainan sendiri. Ini menunjukkan bahwa daya hidup *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) + Urea dan air limbah domestik mempunyai banyak kesamaan dibanding daya hidup pada air sumur sendiri.

Untuk mudahnya, maka dari diagram batang masing-masing air pada halaman 56 sampai 59 dapat dijadikan satu diagram batang gabungan untuk membandingkan secara visual jumlah sel *Helicobacter pylori*. Diagram batang gabungan dapat dilihat pada halaman 64, sebagai berikut :

JUMLAH SEL H.PYLORI DALAM MEDIA THIOGLYCOLATE (KONTRO), AIR SUMUR, DAN AIR PDAM + UREA



Gambar 5.8. Diagram Batang Jumlah Sel Helicobacter pylori Secara Gabungan (Pada Keempat Jenis Air)

JUMLAH SEL HELICOBACTER PYLORI PADA KEEMPAT JENIS AIR

MEDIA	PENGAMATAN	RATA-RATA JUMLAH SEL H.P. (CFU/ml)	BENTUK MIKROSKOPIK
THIOGLYCOLATE	HARI 0	288	Bentuk 'S'
	HARI 3	247	Bentuk 'S'
	HARI 6	187	Kokus (coccoid)
	HARI 9	98	Kokus (coccoid)
	HARI 12	88	Kokus (coccoid)
AIR SUMUR	HARI 0	250	Bentuk 'S'
	HARI 3	241	Bentuk 'S'
	HARI 6	230	Kokus (coccoid)
	HARI 9	43	Kokus (coccoid)
	HARI 12	5	Kokus (coccoid)
AIR LIMBAH DOMESTIK	HARI 0	208	Bentuk 'S'
	HARI 3	228	Bentuk 'S'
	HARI 6	68	Kokus (coccoid)
	HARI 9	5	Kokus (coccoid)
	HARI 12	3	Kokus (coccoid)
AIR PDAM + UREA	HARI 0	251	Bentuk 'S'
	HARI 3	211	Bentuk 'S'
	HARI 6	82	Kokus (coccoid)
	HARI 9	10	Kokus (coccoid)
	HARI 12	0	Kokus (coccoid)

5. 3. Pemeriksaan Kimia Air

Pemeriksaan kimia air dengan parameter pH, Nitrit (NO_2), Nitrat (NO_3), Ammonium (NH_4), Natrium (Na), Chlorida (Cl), Timbal (Pb) dan Seng (Zn) dilakukan pada awal percobaan dan akhir percobaan, yaitu pada sebelum hari ke nol (0) dan pada akhir hari keduabelas (12). Kecuali nilai pH yang setiap tiga hari sekali ditera , menggunakan buffer NaHCO_3 dan HCl, sebagai alat untuk menstabilkan pH hingga berkisar 7 (netral) . Peneraan pH dimaksudkan sebagai kondisi pertumbuhan optimal bagi *Helicobacter pylori*.

Pemeriksaan air dilakukan sebelum dan setelah sterilisasi, dimaksudkan untuk menguji apakah kadar parameter penelitian tetap sama atau berubah. Dari hasil pemeriksaan kimia air terbukti kadar parameter uji tidak berubah. Dilakukannya sterilisasi air dikarenakan dalam uji pendahuluan yang telah dilakukan sebelumnya terjadi banyak sekali kesulitan identifikasi *Helicobacter pylori*. Bila air uji tidak disteril maka pertumbuhan dalam plate sangat bervariasi baik jumlah maupun macamnya. Ini menyulitkan identifikasi *Helicobacter pylori* dan proses uji-uji biokimia selanjutnya. Kemudian dipikirkan cara mempermudah identifikasi tanpa mengurangi tujuan dan makna penelitian.

Adapun hasil pemeriksaan kimia air adalah sebagai berikut :

Tabel 5.3 Hasil Pemeriksaan Kimia Air

Parameter	Satuan	AirKranPDAM + Urea		Air Limbah Domestik		Air Sumur	
		Hari 0 Setelah Disterilisasi	Hari 12	Hari 0 Setelah disterilisasi	Hari 12	Hari 0 Setelah Disterilisasi	Hari 12
PH		7,5	7,4	7,8	7,6	7,2	6,9
Nitrit (NO ₂)	Ppm	0,001	0,024	0,144	0,11	0,0	0,02
Nitrat (NO ₃)	Ppm	2,38	2,38	1,84	1,78	2,32	2,16
Ammonium (NH ₄)	Ppm	0,0	0,0	0,20	0,22	0,16	0,14
Natrium(Na)	Ppm	25,80	27,6	29,44	28,45	23,00	21,14
Chlorida (Cl)	Ppm	12,96	17,91	17,91	19,27	12,79	14,56
Timbal (Pb)	Ppm	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Seng (Zn)	Ppm	0,086	0,082	0,089	0,086	0,407	0,506

Keterangan : i. Sampel air sebelum dipakai sebagai media uji
Terlebih dahulu disucihamakan (disterilisasi),
Yaitu pada hari ke nol (0)

ii. Metode pemeriksaan kimia air menggunakan
Metode Dimitri dimana dari angka nol (0) yang
Yang didapatkan berarti tidak terdeteksi/ TT
(*Not Detected /ND*)

Dari data tersebut diatas dapat dilakukan analisis Varian dengan uji lanjutan yaitu analisis pengukuran ulang multivariate (*Multivariate Repeated Analysis*), dengan hasil nilai P yang menunjukkan adanya perbedaan (signifikan). Untuk menelusuri perbedaan antar faktor – faktor pengaruh parameter kimia air (dalam penelitian ini dipakai beberapa parameter kimia air yaitu : pH, Nitrit (NO_2), Nitrat (NO_3), Ammonium (NH_4), Natrium (Na), Chlorida (Cl), Timbal (Pb) dan Seng (Zn)) tersebut kepada daya hidup *Helicobacter pylori* dipakai uji Scheffe. Dari uji Scheffe yang telah dilakukan didapatkan nilai $P = 0,003$ untuk Nitrit, sehingga disimpulkan bahwa Nitrit adalah parameter atau menjadi faktor yang paling dominan, dengan demikian diketahui bahwa Nitrit adalah faktor yang paling berpengaruh terhadap daya hidup *Helicobacter pylori* , namun bila diuji secara gabungan dengan parameter-parameter lainnya secara bersamaan, efek Nitrit tersebut menjadi hilang/ tidak tampak atau tidak dominan lagi, ini dibuktikan dengan didapatnya nilai P yang mendekati satu , atau berarti tidak berpengaruh lagi terhadap daya hidup *Helicobacter pylori*.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1. Pemiakan dan Uji Biokimia *Helicobacter pylori*

Mikroba di lingkungan mana saja pada umumnya berada dalam populasi campuran, demikian juga dengan keberadaan *Helicobacter pylori*. Bisa dikatakan amat jarang mikroba yang dijumpai sebagai suatu spesies tunggal di alam. Untuk mencirikan dan mengidentifikasi suatu spesies tertentu, pertama-tama spesies itu harus dipisahkan dari spesies lain yang umum dijumpai dalam habitatnya, lalu ditumbuhkan dalam biakan murni. Biakan murni *Helicobacter pylori* yaitu biakan yang sel-selnya berasal dari pembelahan satu sel tunggal *Helicobacter pylori*. Tujuan dilakukannya biakan murni ini dimaksudkan agar semua metoda mikrobiologis yang digunakan untuk menelaah dan mengidentifikasi mikroba, termasuk penelaahan ciri-ciri kultural, morfologis, fisiologis maupun serologis, memerlukan suatu populasi yang terdiri dari satu macam mikroba saja (Hadioetomo, 1993). Ada beberapa cara yang dipakai untuk memperoleh biakan murni, tetapi yang sering dilakukan oleh pemula adalah cawan gores, adapun bahan pemeriksaan diambil dengan metode sengkeliit terkaliber seperti disebutkan dalam Eddy (1986) bahwa bahan pemeriksaan yang telah dibuat homogen diambil dengan sengkeliit platinum terkalibrasi (volume 0,001 ml atau 0,01 ml) secara vertikal

dan ditahan pada medium lempeng agar secara *streaking*. Medium lempeng agar kemudian dieramkan dengan posisi terbalik. Setelah waktu pengeraman jumlah koloni yang didapat, dikalikan 1000 atau 100 (sesuai dengan volume sengkeli). Dalam penelitian ini dipakai sengkeli atau jarum ose ujung bulat dengan volume 0,01 ml. Cara atau teknik cawan gores dirasa banyak keuntungannya, yaitu diantaranya adalah menghemat bahan dan waktu. Selain keuntungan di atas, didapat kelemahan juga yang sering dilakukan oleh pemula yaitu dalam hal pembuatan goresan pada permukaan medium agar, seringkali kurang merata atau merobek permukaan agar hingga rusak. Teknik menggores pada permukaan medium agar memang mempengaruhi bentuk koloni yang didapatkan, terutama pada hasil pembiakan primernya.

Pembiakan isolat *Helicobacter pylori* dilakukan berulang-ulang dari tinja atau feses 30 mencit yang positif terinfeksi *Helicobacter pylori* dengan tujuan untuk mengetahui kemurnian bakteri ini. Dari tinja/ feses 30 mencit didapat hanya lima mencit yang betul-betul positif *Helicobacter pylori*. Kesulitan sangat dirasakan dalam pembiakan ulang yang seringkali mengalami perubahan sifat, baik dari bentuk morfologi yang berubah-ubah (pada pembiakan ulang yang lama didapatkan bentuk batang/ kokus), maupun perubahan reaksi uji-uji biokimia yang dilakukan. Pada biakan feses awal sering terkontaminasi jamur, meskipun sudah diberi anti jamur (fungizone) dan pada media ditambahkan antibiotika serta media selektif Skirrow. Dalam Hariadi (1995) disebutkan bahwa banyak sekali faktor kontaminan yang dapat mempengaruhi kemurnian isolat *Helicobacter pylori*

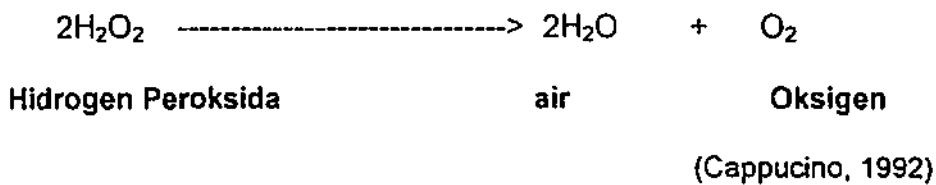
kontaminan yang dapat mempengaruhi kemurnian isolat *Helicobacter pylori* selama dalam perjalanan. Bakteri ini sangat rentan (*fastidious*) dengan syarat-syarat pertumbuhan tertentu yang harus dipenuhi untuk pertumbuhan optimalnya.

Pada uji pendahuluan, bila air uji tidak disteril terlebih dahulu maka akan menyulitkan peneliti dalam hal identifikasi bakteri uji dan menganalisis hasil yang diperoleh (yaitu bakteri uji). Oleh sebab itu sampel air disucihamakan terlebih dahulu (disterilisasi).

Media padat dengan darah segar merupakan pilihan banyak peneliti. Media ini sudah terbukti bekerja sangat baik, hanya saja harganya cukup mahal (Suata dan Suyasa, 1995). Pada penelitian ini dipakai Blood Agar Plate (BAP) sebagai media pilihan bagi pertumbuhan *Helicobacter pylori*, tentu saja dengan tambahan media selektif Skirrow untuk memudahkan identifikasi. Hasil biakan secara berulang-ulang menunjukkan bahwa isolat tersebut masih murni *Helicobacter pylori*.

Untuk memastikan keberadaan *Helicobacter pylori* dilakukan beberapa uji biokimia. Hasil uji biokimia menunjukkan reaksi positif terhadap uji urease, oksidase, dan katalase, sedangkan uji glukosa, manitol, xylosa, reduksi nitrat dan uji indol negatif. Uji urease harus positif karena *Helicobacter pylori* menghasilkan urease dalam jumlah banyak. Urease adalah enzim hidrolitik yang memutuskan ikatan Hidrogen dan Karbon pada urea dan membentuk hasil akhir basa berupa amonia. *Helicobacter pylori* mempunyai kemampuan memecah urea dengan enzim urease yang dihasilkannya menjadi amonia,

memproduksi enzim katalase. Pada prinsipnya, selama respirasi anaerobik *Helicobacter pylori* memproduksi Hidrogen peroksida yang pada beberapa kasus merupakan superoksida bersifat toksik. Akumulasi substansi-substansi ini mengakibatkan kematian kecuali bila mampu mendegradasinya secara enzimatis. Substansi ini bisa diproduksi dalam keadaan anaerob, fakultatif anaerob dan mikroaerofilik dengan memakai jalur respirasi aerobik yaitu O_2 adalah akseptor elektron terakhir selama degradasi karbohidrat. Untuk memproduksi energi, mikroba yang dapat memproduksi katalase atau peroksidase secara kuat, juga mampu mendegradasi hidrogen peroksida.



Gambar 6.1 : Degradasi Hidrogen Peroksida

Uji Oksidase bertujuan untuk membedakan kelompok-kelompok bakteri berdasarkan aktivitas sitokrom oksidasenya. Adapun prinsipnya adalah enzim oksidase yang berperan vital dalam sistem transpor elektron selama respirasi aerob. Sitokrom oksidase mengkatalisis oksidasi dari sitokrom yang direduksi oleh oksigen molekuler yang akan menghasilkan formasi H_2O atau H_2O_2 . Bakteri aerob seperti halnya anaerob fakultatif atau mikroaerofilik memperlihatkan aktivitas oksidase. Kemampuan bakteri dalam memproduksi sitokrom oksidase diketahui dengan menambahkan reagen Tetrametil-p-

phenylene diamin dihidroklorida pada koloni yang tumbuh. Reagen yang berwarna merah muda terang berfungsi sebagai substrat tambahan yang memberikan elektron dan akan teroksidasi menjadi senyawa kehitaman jika ada enzim oksidase dan oksigen bebas. Setelah penambahan reagen tersebut, pembentukan warna merah muda (akhirnya hitam) menunjukkan produksi sitokrom oksidase yang berarti reaksi positif.

Uji glukosa menunjukkan hasil yang negatif, karena *Helicobacter pylori* lebih cenderung memakai protein (darah atau serum) dalam metabolismenya untuk menghasilkan energi.

Hasil pengecatan Gram menunjukkan bakteri Gram negatif, berbentuk batang bengkok atau spiral.

Setelah inokulasi dilakukan, maka dilanjutkan dengan penyimpanan di dalam anaerobik jar. Dipakainya anaerobik jar ini dikarenakan *Helicobacter pylori* bersifat mikroaerofilik. Sifat mikroaerofilik dapat diterangkan dengan cara pemenuhan kebutuhan akan Oksigen yang sangat kecil atau sangat sedikit. Persentase kebutuhan CO₂, O₂ dan N₂ bagi *Helicobacter pylori* berkisar antara 10 % CO₂, 5 % O₂ dan 85 % N₂. Karena itu dipakai anaerobik jar yang mempunyai prinsip kerja tertentu untuk menciptakan kondisi mikroaerofilik bagi *Helicobacter pylori*. Prinsip kerja anaerobik jar diatur oleh adanya dua komponen dalam anaerobik jar yaitu amplop berisi pembangkit Hidrogen ditambah Karbondioksida (CO₂) dan katalis Paladium suhu kamar. Pertama, air ditambahkan ke dalam amplop gas pak dan Hidrogen mulai dihasilkan. Hidrogen bereaksi dengan Oksigen pada permukaan katalis untuk

membentuk air dan kemudian menimbulkan keadaan anaerobik. Karbondioksida juga dihasilkan oleh amplop gas pak dalam volume yang cukup untuk menunjang pertumbuhan *Helicobacter pylori*. Secarik pita indikator anaerobik (secarik pita yang diberi larutan biru metilen sampai jenuh) dapat berubah warna dari biru menjadi tidak berwarna bila tidak ada oksigen (Mukherjee, 1988).



Gambar 6.2 : Anaerobik jar yang digunakan untuk memenuhi syarat Hidup mikroaerofilik bagi *Helicobacter pylori*

- Keterangan :
- a. kelem dengan sekrup kelem
 - b.tutup dengan paking cincin O
 - c.butir-butir katalis
 - d.ruang reaksi katalis
 - e.penangkap kilat untuk mencegah peledakan
 - f.amplop pembangkit hidrogen dan karbondioksida sekali pakai
 - g.indikator anaerobik gas pak sekali pakai
 - h. tempat cawan biakan

(Mukherjee, 1988)

6.2. Uji Daya Hidup *Helicobacter pylori*

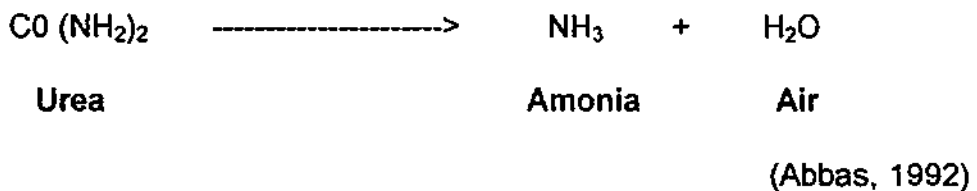
Pada uji pendahuluan ketiga jenis air uji tidak disterilkan terlebih dahulu sehingga pada tahap pembiakan dari uji daya hidup didapat pertumbuhan yang membingungkan serta menyulitkan identifikasi/ konfirmasi *Helicobacter pylori*, sebagai bakteri uji. Didapat banyak sekali pertumbuhan bakteri-bakteri lain dan jamur serta kontaminasi lainnya. Sehingga dari tahap ini perlu dilakukan sterilisasi ketiga macam air uji sebelum perlakuan dengan *Helicobacter pylori*, guna mempermudah tahap-tahap penelitian selanjutnya.

Tetapi dari hasil pemeriksaan kimia air sebelum dan sesudah sterilisasi air uji tidak didapatkan perbedaan kadar dari parameter-parameter uji. Kadar: pH, Nitrit (NO_2), Nitrat (NO_3), Ammonium (NH_4), Natrium (Na), Chlorida (Cl), Timbal (Pb) dan Seng (Zn) sebelum dan sesudah sterilisasi air adalah sama (dapat dilihat pada tabel 5.3, halaman 66). Sehingga dari tidak adanya perubahan kadar parameter-parameter air tersebut pemeriksaan berikutnya dapat terus dilakukan.

Bila ditinjau dari prinsip interaksi mikroba, pemakaian air steril tentu saja meniadakan asumsi adanya interaksi atau lebih spesifiknya kompetisi antara *Helicobacter pylori* dengan mikroba air. Adanya kompetisi antara *Helicobacter pylori* dengan mikroba air dapat mempengaruhi daya hidup *Helicobacter pylori*. Misalkan interaksinya saling memperkuat (sinergis) bisa

saja menambah daya hidupnya, atau juga interaksi saling berlawanan /saling memperlemah (antagonis) dapat menurunkan jumlah sel *Helicobacter pylori*.

Pada perlakuan dengan air Kran (PDAM) + urea, dilakukan penambahan 0,1 mili Molar urea ($\text{CO}(\text{NH}_2)_2$), ini disesuaikan dengan kemampuan *Helicobacter pylori* mendegradasi urea menjadi amonia, sebagai faktor penyesuaian diri terhadap lingkungan. Adapun secara ringkasnya dapat dirumuskan sebagai berikut :



Gambar 6.2 : Degradasi Urea oleh *Helicobacter pylori*

Pada tabel 5.3 hasil pemeriksaan kimia air (halaman 66) diperoleh hasil kadar amonia nol artinya tidak terdeteksi, hal ini dapat terjadi karena penambahan urea sebelum penelitian uji daya hidup *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) telah dimetabolisme, kemudian pada deteksi kimia air telah berubah menjadi produk sisa hasil metabolisme yang sulit terdeteksi.

Dari analisis regresi dengan taraf uji 0,05 didapat nilai P 0,000 yang berarti signifikan atau berbeda nyata. Hasil uji statistik tersebut menunjukkan bahwa daya hidup *Helicobacter pylori* pada ketiga macam air termasuk media thioglycollate (kontrol), mempunyai perbedaan. Dari hasil analisis varian didapatkan hasil yang signifikan atau berbeda nyata. Kemudian, analisis ini

dilanjutkan dengan uji Scheffe (*Scheffe test*) , untuk menelusuri ada tidaknya perbedaan antar kelompok jenis air dan waktu pengamatan. Hasilnya perbandingan dua kelompok tersebut dimasukkan dalam analisis pengukuran ulang univariate (*univariate Repeated Analysis*) dengan memakai uji F , didapatkan nilai yang hampir sama antara air kran (PDAM) + urea dan air limbah domestik. Sedangkan pada air sumur didapatkan tipe yang berlainan sendiri. Ini menunjukkan bahwa daya hidup *Helicobacter pylori* pada air Kran (PDAM) + Urea dan air limbah domestik mempunyai banyak kesamaan dibanding daya hidup pada air sumur sendiri.

6.2.1. Jumlah Sel *Helicobacter pylori* pada Media Thioglycollate (Kontrol)

Pada penelitian ini digunakan media cair Thioglycollate sebagai kontrol, dikarenakan pada media ini didapatkan pertumbuhan optimal bagi *Helicobacter pylori* (Marshall, 1991). Dari diagram jumlah sel *Helicobacter pylori* air sumur , didapatkan hasil yang spesifik dibanding pada ketiga jenis air uji lainnya. Pada air kontrol (Thioglycollate) jumlah sel *Helicobacter pylori* relatif stabil, penurunan sedikit demi sedikit sampai hari ke duabelas. Berbeda dengan jumlah sel pada ketiga jenis air uji lainnya yang turun drastis. Pada media cair Thioglycollate kandungan nutrisinya sudah disiapkan dari awal (merupakan medium buatan) dengan demikian komposisi serta nutrisinya optimal bagi *Helicobacter pylori* . Wajar bila dibandingkan dengan media air

lainnya yang alami (langsung diambil dari lingkungan), meskipun pada tahapan tertentu telah mengalami sterilisasi, bahkan pada air Kran (PDAM) telah mengalami klorinasi.

Bila dibandingkan, jumlah sel *Helicobacter pylori* pada media Thioglycollate (kontrol) paling dekat atau paling mirip dengan pada air sumur. Ini dimungkinkan pada air sumur juga mengandung nutrisi yang sesuai yaitu kemungkinan adanya perembesan dari limbah domestik berupa urine yang mengandung urea sebagai faktor tumbuh yang penting bagi *Helicobacter pylori*. sampel air sumur diambil dari sumur berkedalaman kurang lebih duapuluh meter, dengan mata air berupa air tanah. Dengan demikian air sumur umumnya lebih bersih secara alam dari air permukaan yang tentunya telah banyak mengalami kontaminasi Dalam Meta Equif (1997) disebutkan bahwa di lingkungan perkotaan, fasilitas sanitasi setempat yang sering dipakai adalah tanki septik dialirkan menuju sumur rembesan, sedangkan lumpur dibiarkan mengendap di dasar tanki septik atau cubluk. Air sumur sering terkontaminasi air limbah domestik terutama daerah yang belum mempunyai Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL). Perembesan menuju air sumur dimungkinkan karena setiap sumber air berhubungan melewati porus-porus menuju saluran air baik besar maupun kecil di dalam tanah. Banyaknya perembesan di sekitar saluran buangan dapat saja menuju porus-porus tanah dalam sumur, meskipun air sumur adalah berasal dari air tanah dengan kedalaman tinggi (umumnya berkisar 20 meter).

6.2.2. Jumlah sel *Helicobacter pylori* pada Air Sumur

Ditinjau dari kondisi ketiga jenis air uji, *Helicobacter pylori* lebih dapat bertahan hidup (lebih lama) pada air sumur dibandingkan air kran (PDAM) yang ditambah urea dan air limbah domestik. Sampel air sumur diambil dari sumur penduduk yang banyak dipakai untuk berbagai keperluan seperti : memasak, mencuci, mandi dan pembuangan (kakus). Dengan demikian, kondisi air sumur tersebut terkontaminasi. Dalam Meta Equif (1997) disebutkan bahwa di lingkungan perkotaan, fasilitas sanitasi setempat yang sering dipakai adalah tanki septik dialirkan menuju sumur rembesan, sedangkan lumpur dibiarkan mengendap di dasar tanki septik atau cubluk. Namun, masalahnya limbah domestik di daerah padat umumnya belum mempunyai Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL), atau belum terkoordinasi secara baik. Padahal setiap sumber-sumber air melewati porus-porus menuju saluran air baik besar maupun kecil di dalam tanah. Banyak terjadi perembesan di sekitar saluran buangan, sehingga memungkinkan terjadinya kontaminasi air.

Daya hidup *Helicobacter pylori* pada air sumur, meskipun air ini tidak melewati serangkaian tahap pengolahan seperti pada air PDAM, didapat hasil paling baik. Memasuki hari ke sembilan meskipun jumlah sel bakteri sedikit (telah mengalami penurunan drastis dari hari ke nol) jumlah ini paling besar dibanding pada air kran (PDAM) + urea dan air limbah domestik yang sudah habis pada hari keenam. Hal ini mendukung pernyataan oleh Anita Manning

(1996) yaitu bahwa *Helicobacter pylori* penyebab luka lambung (*peptic ulcers*) dapat terbawa oleh air.

Sampel air sumur diambil dari sumur berkedalaman kurang lebih dua puluh meter, dengan mata air berupa air tanah. Dengan demikian air sumur umumnya lebih bersih secara alam dari air permukaan yang tentunya telah banyak mengalami kontaminasi

6.2.3. Jumlah Sel *Helicobacter pylori* pada Air Limbah Domestik

Air limbah domestik yang digunakan sebagai sampel adalah air limbah rumah tangga, tentunya komposisinya lebih sederhana dibanding limbah pabrik atau industri berat. Ini dapat dilihat dari kadar Pb (Plumbum) yang nol, berarti limbah tidak mengandung Plumbum, ada kandungan Seng (Zn) namun minim (pada tabel 5.3 halaman 66).

Pada air limbah domestik pertumbuhan *Helicobacter pylori* juga dimungkinkan adanya urea hasil degradasi urine limbah dari kamar mandi, diketahui bahwa bakteri ini mempunyai kemampuan memproduksi urease sangat banyak. Enzim ini merupakan salah satu faktor penyesuaian diri terhadap habitat asal yaitu lingkungan lambung, dan memegang posisi kunci dalam proses metabolisme *Helicobacter pylori* (Perez, 1994).

6.2.4. Jumlah Sel *Helicobacter pylori* Pada Air Kran (PDAM) + Urea

Dibandingkan dengan pertumbuhan *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) ditambah urea, dari segi kebersihan air jelas air PDAM lebih bersih dibanding air sumur, terlebih lagi dengan air limbah domestik. Air PDAM menurut definisi Direktorat Geologi Tata Lingkungan (1997) adalah air yang dihasilkan oleh perusahaan atau badan-badan usaha dan telah mendapat izin pemerintah mengusahakan air minum untuk masyarakat. Dengan demikian air Kran (PDAM) telah mengalami pengolahan dari air baku yang diambil dari sumbernya (yaitu air tanah) menjadi air yang cocok bagi keperluan domestik/ air minum serta keperluan hidup lainnya. Terlebih lagi dalam tahap pengolahannya, air PDAM mengalami penambahan Chlorine, atau tahap klorinasi air (Rump & Krist, 1992). Dalam Johnson, et.al (1997) disebutkan bahwa dari tiga macam strain *Helicobacter pylori* yang diuji, dapat dibedakan efeknya terhadap klorinasi air. Adanya Chlorine berpengaruh terhadap pertumbuhan *Helicobacter pylori*. Dengan demikian adanya chlorine dapat dianggap sebagai penghambat pertumbuhan bakteri ini. Menurut data hasil pemeriksaan kimia (pada tabel 5.3, pada halaman 66) diketahui kadar Chlorida (Cl) sebesar 12,96 dan 17,91 ppm. Bila dibandingkan dengan kadar Chlorida air sumur dan air limbah domestik relatif hampir sama. Dan dari analisis varian dilanjutkan uji Scheffe diperoleh hasil bahwa Chlorida tidak berpengaruh terhadap daya hidup *Helicobacter pylori*, dapat diketahui dari nilai P 0,000.

Penambahan kadar urea sebesar 0,1 milimolar , disebutkan dalam (West, 1992) sangat efektif bagi pertumbuhan optimal *Helicobacter pylori*. Karenanya dipakai jumlah tersebut dalam melihat daya hidupnya pada air kran (PDAM). Namun dalam percobaan yang dilakukan West tersebut dilakukan berbagai macam kondisi fisik, dan selalu ditukar variabelnya secara beraturan kemudian diuji ulang (diantaranya adalah penambahan salinitas, urea, protein / serum dan gelatin, serta perubahan pH).

6.3. Faktor yang Mempengaruhi Daya Hidup *Helicobacter pylori*

Jika ditinjau kembali, sampel air sumur diambil dari sumur berkedalaman kurang lebih duapuluh meter, dengan mata air berupa air tanah. Dengan demikian air sumur umumnya lebih bersih secara alam dari air permukaan yang tentunya telah banyak mengalami kontaminasi. Secara teoritis, air yang merembes ke dala tanah telah tersaring oleh beberapa lapisan tanah yang terlewati. Semakin dalam lapisan tanah , kontaminasi serta jumlah mikroba yang hidup makin sedikit. Ini sangat dipengaruhi oleh kondisi fisik dan kimia tanah, seperti kelembaban, kandungan bahan organik, suhu, kadar Oksigen serta penetrasi cahaya matahari. Daya hidup *Helicobacter pylori* paling lama pada air sumur tidak berarti bakteri ini lebih suka mencemari air sumur dibanding air kran (PDAM) maupun air limbah domestik. Bakteri ini dapat memasuki air sumur karena kontaminasi atau pengotoran air

buangan serta limbah domestik lainnya. Hal ini didukung data belum adanya Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) serta banyaknya kebocoran pipa saluran air besar maupun kecil (Meta Equif, 1997). Tetapi selain kebocoran pipa saluran air serta jeleknya sistem pembuangan limbah di Indonesia khususnya di daerah padat penduduk, data ini dapat dipakai sebagai pendukung terjadinya kontaminasi air sumur, data ini membuka pikiran pada adanya kandungan urea sebagai hasil degradasi limbah domestik berupa urine. Diketahui bahwa *Helicobacter pylori* membutuhkan urea sebagai komponen penting untuk kelangsungan hidupnya. Di dalam habitat aslinya yaitu dalam lapisan mukosa lambung. Amonia yang dihasilkan dari pemecahan urea memungkinkan bakteri ini menyesuaikan diri terhadap lingkungan sekitar agar terhindar dari efek kerusakan oleh asam lambung (Abbas, 1992). Dari data pengamatan hasil kimia air pada tabel 5.3 (pada halaman 66) dapat dilakukan analisis Varian dengan uji lanjutan yaitu analisis pengukuran ulang multivariate (*Multivariate Repeated Analysis*), dengan hasil nilai P yang menunjukkan adanya perbedaan (signifikan). Untuk menelusuri perbedaan antar faktor – faktor pengaruh parameter kimia air (yaitu : parameter pH, Nitrit (NO_2), Nitrat (NO_3), Ammonium (NH_4), Natrium (Na), Chlorida (Cl), Timbal (Pb) dan Seng (Zn)) tersebut kepada daya hidup *Helicobacter pylori* dipakai uji Scheffe. Dari uji Scheffe tersebut, didapatkan nilai $P = 0,003$ untuk Nitrit, sehingga disimpulkan bahwa Nitrit paling dominan, dengan demikian diketahui bahwa Nitrit adalah faktor yang paling berpengaruh terhadap daya hidup *Helicobacter pylori* , namun bila diuji

secara gabungan dengan parameter-parameter lainnya secara bersamaan efek Nitrit tersebut menjadi hilang atau tidak dominan lagi, dengan didapatnya nilai P yang mendekati satu , atau berarti tidak berpengaruh lagi terhadap daya hidup *Helicobacter pylori*. Seperti dalam Perez et. al., (1994) dikatakan bahwa *Helicobacter pylori* membutuhkan kation-kation (seperti natrium, kalium, magnesium) dalam menstabilkan aktivitas urea dalam air. Hal ini berhubungan erat dengan mekanisme pergantian ion pada gel mukosa dan muatan positif epitel permukaan lambung ,sebagai habitat asli *Helicobacter pylori* (Hazel, 1990). Dari tabel 5.3 (pada halaman 66) tentang hasil pemeriksaan kimia air didapat data keberadaan logam berat yang sangat mungkin bersifat toksik bahkan menghambat daya hidup *Helicobacter pylori* yaitu Timbal (Pb) nol (tidak ada kandungan Timbal di dalam semua air uji). Sedangkan Seng (Zn) didapat kadar yang kecil sekali dan dalam analisis multivariate nilai P menyatakan tidak berpengaruh.

Sesuai hasil analisis regresi dengan alfa 0,05 , dari nilai P (probabilitasnya) dinyatakan daya hidup *Helicobacter pylori* air kran (PDAM) + urea dan air limbah domestik mempunyai banyak kesamaan. Dengan demikian dapat dikatakan air kran (PDAM) + urea dan air limbah domestik hampir sama efeknya bagi pertumbuhan *Helicobacter pylori*. Dengan demikian penambahan urea pada air PDAM tidak berdampak lebih baik bagi kehidupan *Helicobacter pylori*. Lebih lanjut analisis perbandingan antar kelompok jenis air dengan tiap interval waktu pengamatan (Uji F) dengan taraf uji 0,05 tidak didapat interaksi antara jenis perlakuan (jenis air) dan waktu pengukuran/

pengamatan. Didapat rata-rata daya hidup *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) + urea dan air limbah domestik selama enam hari. Menurut West et.al., (1992) *Helicobacter pylori* isolat NCTC 11637 dan CI182 dapat tahan hidup pada air dengan perlakuan pH buffer, penambahan urea dan saline berkisar antara dua sampai lima hari. Bahkan seperti disebutkan West dalam Harijono (1996) bahwa meskipun sampai sekarang *Helicobacter pylori* tidak ditemukan dalam keadaan hidup dalam air/ tanah, namun penelitian di Peru melaporkan bahwa air merupakan salah satu faktor yang penting dalam penularan. Pada West (1990) dinyatakan juga bahwa *Helicobacter pylori* isolat NCTC 11916 dan NCTC 11639 mampu hidup dalam air destilasi selama sebelas sampai empat belas hari, pada air garam (*saline*) selama enam belas hari dan pada air laut buatan (*artificial seawater*) selama tiga hingga tujuh hari. Pada studi eksperimen ternyata *Helicobacter pylori* mampu bertahan dalam air dan makanan dingin untuk beberapa hari. *Helicobacter pylori* diduga mempunyai bentuk nonspiral yaitu berbentuk kokoid yang dapat bertahan hidup dalam air segar sampai satu tahun.

Selanjutnya terlihat bahwa daya hidup *Helicobacter pylori* pada masing-masing air mengalami perubahan tiap interval waktu pengamatan dan kesemuanya jumlah selnya makin habis. Hal ini tidak dipengaruhi oleh kondisi waktu pelaksanaan uji daya hidup terhadap jenis air. Adanya faktor yang berpengaruh adalah kondisi inokulum yang terlalu tua atau terlalu muda. Apabila inokulum yang digunakan sel-selnya terlalu tua daya hidup secara alami memang sudah semakin menurun, sedangkan bila terlalu muda akan

kurang dapat beradaptasi terhadap kondisi lingkungan yang baru (Westbloom, 1989). Selain itu Pertumbuhan optimal *Helicobacter pylori* juga amat tergantung dengan ketersediaan nutrisi. Dalam hal ini asam organik dan asam amino yang berasal dari darah sebagai media pengaya (*enrichment media*) , menurut Rathbone dan Heatley (1989) fungsi nutrisi tidak hanya sebagai penyedia bioelemen yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri, tetapi yang lebih penting bahwa nutrisi dibutuhkan oleh bakteri sebagai sumber ATP. Selain itu daya hidup *Helicobacter pylori* dipengaruhi oleh kondisi lingkungan meliputi pH, suhu dan konsentrasi Oksigen di udara. Terlebih lagi dengan sifat *Helicobacter pylori* yang rentan atau *rewel* (*fastidious*). Abbas (1992) menyatakan bahwa *Helicobacter pylori* tidak memiliki endospora, akan tetapi bakteri ini dapat berubah menjadi bentuk kokoid yang relatif tahan terhadap kondisi ekstrim. Saat dalam air *Helicobacter pylori* dapat berubah menjadi bentuk kokus/ kokoid, sehingga mampu bertahan hidup meskipun tidak menggunakan nutrisi. Apabila kondisi lingkungan sesuai untuk pertumbuhannya maka dapat tumbuh menjadi bentuk vegetatif dalam tempat hidup yang sesuai.

Faktor abiotik lain yang turut berperan dalam menentukan daya hidup serta merupakan faktor pembatas adalah suhu dan derajat keasaman (pH). Suhu merupakan salah satu faktor yang penting dalam pertumbuhan mikroba. Pada penelitian ini pH selalu dinetralkan dengan pemakaian buffer, dan peneraan kembali setiap waktu pengamatan. Menurut Blaser, (1993) *Helicobacter pylori* dapat tumbuh pada kisaran pH 5,5 – 8,5 dengan pH

terbaik bagi pertumbuhannya pada kisaran 6,9-8,0. Sebagai faktor penting, suhu dan pH dalam penelitian ini dikondisikan sama yaitu pada suhu dan pH optimal bagi pertumbuhan *Helicobacter pylori*, maka menjadi faktor pendukung bagi daya hidupnya. Suhu yang dipakai sebesar suhu inkubator yaitu 37 °C, dan selalu diadakan pemeriksaan ulang suhu inkubasi. Menurut Rathbone dan Heatley diketahui *Helicobacter pylori* dapat tumbuh pada suhu 30-40 °C, tidak didapatkan pertumbuhan pada suhu 25 °C. Tetapi suhu yang optimum bagi pertumbuhannya adalah 37 °C.

Meskipun *Helicobacter pylori* mampu mentolerir perubahan kondisi di luar habitatnya (dalam hal ini air), akan tetapi daya tahan mencapai titik nol pada akhir waktu pengamatan. Hal ini jelas dirasakan sebagai faktor pembatas, selain faktor suplai nutrisi yang sangat diperlukan bagi kelangsungan hidupnya. Abbas (1992) menyatakan bahwa nutrisi berupa asam organik atau asam amino yang berasal dari darah akan masuk jalur Krebs hingga dapat digunakan sebagai sumber energi. Faktor kadar Oksigen, seperti diketahui menurut Jawetz (1991) dalam penanganan bakteri-bakteri mikroaerofilik memerlukan ketekunan dan ketelitian yang tinggi. Bila tidak ada anaerobik jar bisa dipakai desikator dengan nyala lilin didalamnya. Pada saat uji daya hidup *Helicobacter pylori*, stok air plus bakteri uji dalam tabung memang dalam kondisi aerob, baru pada saat inokulasi media dilakukan kondisi mikroaerofilik. Dengan demikian konsentrasi Oksigen kurang memenuhi persyaratan hidup bagi *Helicobacter pylori* secara optimal. Meskipun pada awalnya bakteri ini mampu beradaptasi, tetapi akhirnya

daya tahan hidupnya mencapai titik nol. Lay dan Hastowo (1992) menjelaskan bahwa kepekaan mikroba mikroaerofilik terhadap Oksigen disebabkan kemampuannya yang rendah untuk menetralkan daya toksik Oksigen. Berbagai enzim seluler mengkatalisasikan berbagai reaksi yang melibatkan Oksigen. Reaksi ini dapat menyebabkan terbentuknya superoksida yang berakibat inaktivasi komponen sel. Daya rusak terutama oleh adanya H_2O_2 dan hidroksi radikal. Selain itu, dalam West (1992), diuraikan dalam kesimpulannya bahwa *Helicobacter pylori* mampu (*survive*) hidup dalam air dengan beberapa variabel fisik, yaitu adanya larutan garam (*saline*), kombinasi dengan penambahan serum albumin sapi (*bovine*) atau gelatin, pH yang optimal, serta penambahan urea. Dengan demikian, selain masing-masing strain *Helicobacter pylori* tentu punya karakter yang spesifik, juga pengkondisian secara fisik di lingkungan percobaan sangat mempengaruhi daya hidup *Helicobacter pylori* ini.

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

Daya hidup *Helicobacter pylori* pada air kran (PDAM) ditambah urea dan air limbah domestik hampir sama, berkisar enam hari. Sedangkan pada air sumur lebih lama, walaupun jumlah sel sedikit dan bentuknya berubah kokus, memasuki hari kesembilan *Helicobacter pylori* masih ada yang mampu hidup. Dari ketiga jenis air, yang paling mungkin/potensial sebagai media hidup *Helicobacter pylori* adalah air sumur, disusul air PDAM + urea dan air limbah domestik. Maka dari hasil penelitian ini dapat diambil kepastian/kesimpulan yang mendukung rute penularan dan transmisi *Helicobacter pylori* melalui air.

SARAN

Dalam penelitian ini, semua air uji disteril dahulu guna mempermudah identifikasi dan uji-uji biokimia *Helicobacter pylori*. Dengan demikian asumsi adanya kompetisi antara *Helicobacter pylori* dengan mikroba air yang dapat berpengaruh terhadap daya hidupnya tidak dapat diamati. Maka perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan asumsi bahwa air yang tidak disteril dahulu dapat mempengaruhi daya hidup *Helicobacter pylori* bila dihubungkan dengan adanya kompetisi dengan mikroba air, baik kompetisi secara sinergis maupun antagonis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas, H.Z. 1992. *Helicobacter pylori* pada Penderita Gastritis Kronis. Medika : 43-52.
- Anita Manning. 1996. Safety of Water Supply is Threatened Worldwide. USA Today 06/05/96. 05 : 21 PM ET.
- Anonymous , Direktorat Geologi Tata Lingkungan. Informasi Air Tanah.Netscape Navigator 2,0. 1997. Hal 5-6.
- Abbolito M. R., Ameglio F., Guererra A. M., Citarda F., Grassi A., Sciarreta F., Acetti A., Casale V., Gandolfo G. M. 1992. The Association of *Helicobacter pylori* Infection With Low Levels of Urea and pH in The Gastric Juice. Italian J. gastroenterol. : 24 (7): 389-92.
- Anonymous. 1990. Baku Cara Uji Air dan Air Limbah di Jawa Timur. Biro Bina Kependudukan dan Lingkungan Hidup. Sekretariat Wilayah Daerah Tingkat I Jawa Timur : 46-50.
- Alaerts G., dan Sri Simestri Santika. 1987. Metoda Penelitian Air. Usaha Nasional Press. Surabaya : 67-80.
- Axon, A. T. R. 1993. The Role Omeprazole and Antibiotics Combination in The Eradication of *Helicobacter pylori* an Up date, Skand. J. 29:205.
- Barron E. J., Peterson L. R., Finegold S. M. 1994. Bailey and Scott. Diagnostic Microbiology. The Morsby Company. Saint Louis.USA.
- Blaser M. J., 1993. *Helicobacter pylori* Phenotypes Associated With Peptic Ulceration. Skand. J. gastroenterol. 29:206.
- Bloom C.J., Bodeman., Freston R.O. Gugler, and H. D. Piper. 1988. Management of Dyspepsia. Lancet. USA. 1 : 576-579.

- Bridson E.Y. 1991^a. *Helicobacter pylori* Selective Supplement. PT. Dipa Pharnalab Intersains. Jakarta.
- Bridson E.Y. 1991^b. The Oxoid Manual of Culture Media, Ingredients and Other Laboratory Services. Unipath Limited, Wade Road, Hampshire, England.
- Disposable Products, Pty. Ltd. 1992. Microbact System 12 E For The Identification of Enterobacteriaceae. Technology Park, Australia :12.
- Djajapranata I. 1997. Segi Praktis Penangan Penderita dengan Infeksi *Helicobacter pylori* Secara Patologi Anatomi (Sito-Histopatologi) di Indonesia. Surabaya 12 September 1997.
- Djajapranata I. 1995^a. *Helicobacter pylori* dan Penyakit saluran Cerna Dalam Simposium Aspek Epidemiologi , Klinis dan Pengelolaan Infeksi *Helicobacter pylori*. Lab. UPF. Penyakit Dalam UNIBRAW, Malang: 24-50.
- Djajapranata I. 1995^b. *Helicobacter pylori* dan Penyakit saluran Cerna. Dalam seminar *Helicobacter pylori* Dan Penyakit Gastroduodenal. Kelompok Studi *Helicobacter pylori* UNUD. Denpasar. Bali : 67-70.
- Djajapranata I. 1994. Omeprazole. Bul. PGI-PPHI-PEGI cabang Surabaya Vol. 1. (2).
- Eddy Bagus Wasito, 1986. Perhitungan Jumlah Kuman Dalam Cairan. Journal MTKI No. 1 tahun 2, Agustus-Oktober 1986. Hal : 1-2.
- Ellen C. J. U., Barron Lance R . Petherron, Sydney & Finegold.1990. Diagnostics Microbiology. Edisi 9, Mosby. Yearbbok .inc. London.
- Evans D. S., J. R. Doyle J. J., Moulds , O. Y. Graham. 1988. N-Acetylneuraminyllactose-Binding Fibrillar. Hemagglutinin of *Campylobacter pylori* : A Putative Colonization Factor Antigen. J. of Microbiol. Infect. and Immunity. 56.11 : 2896-2906.
- Ferrero R. L. 1995. *Helicobacter pylori* Microbiology, Morphology and Metabolism in O'Morain, C. O'm Connor. 1995. *Helicobacter pylori* Implication and Practice, Normed Verlag. Englewood : 66-69.
- Fiedorek S. C., Malaty H. M., Evans D. L., Pumphrey C. L., Casteel H. B., Evans D.J., and Graham D. Y. 1991. Factors Influencing The

- epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection in Children. *J. Pediatrics*: 88 (3) :578-82.
- Greenwood D., R. Sloock, and Pentheren. 1992. *Medical Microbiology A Guide to Microbial Infections, Patogenesis, Immunity. Lab. Diagnosis and Control*. Churchill Livingstone, London.
- Hadioetomo R. S., 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. Gramedia. Jakarta.
- Hanafiah K. A. 1991. *Rancangan Percobaan Teori Dan Aplikasinya*. Rajawali Press. Jakarta.
- Hariadi M. 1995. *Aspek Diagnostik Helicobacter pylori dalam Naskah Lengkap Simposium "Aspek Epidemiologi , Klinis, Komplikasi dan Pengelolaan Infeksi Helicobacter pylori "*. Lab. UPF RSSA, Malang: 13-15.
- Harijono Achmad. 1995. *Pengaruh Stressor dan Helicobacter pylori Terhadap Respon Imun Mukosa Dalam Patogenesis Gastritis Kronis pada Mus musculus*. Disertasi Program Doktor. Universitas Airlangga. Surabaya : 21-22.
- Harijono., P. Taringan., S. Gunawan., S. Soewignjo., and I.W. Kandra. 1995^a. *Seroprevalence of Helicobacter pylori Infection Among Healthy and Donors People in Several Cities in Indonesia in International AGA/ Singapore Gastroenterological Meeting 6-9 September 1995*. Singapore.
- Hafez E.S.E. 1970. *Reproduction and Breeding Technique For Laboratory Animals*. Lea & Febriger. Philadelphia : 229-315.
- Hazell S. L. 1992 . *The Role of Helicobacter pylori Urease : a Continuous Issue*. *Europ. Gastroenterol. Hepatol.* 4. 1 : 55-59.
- Hazell S. L. 1990. *Urease and Catalase as Virulence Factors Helicobacter pylori*. Springer Verlag. Berlin: 1-10.
- Hiroshi Z.J., Ohasi & Y. Kugoh. 1976. *Manual for the isolation & Identification Of Enteropathogenic Bacteria*. No.6. Seamic Publication. Tokyo : 76-77.

- Holt, J. G., N. R. Krieg., P. H., A. Sneath., J. T. Staley dan S. T. Williams. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. East Preston Street, Maryland., USA.
- Hopkins R. J., and Morris J. G. 1997. *Helicobacter pylori* The Missing Link in Perspective. *American J. Med.* : (3) : 265-77.
- Hopkins R. J., Vial P. A., Ferrecio C. Ovalle J., Prado P. Sotomayor., Russell R. G., Wasserman S. S. and Morris J. G. 1993. Seroprevalence of *Helicobacter pylori* in Chile : Vegetable Serve As One Route of Transmission. *J. Infect. Dis.* Juli : 168 (1) : 222-6.
- Jawetz E. J., Melnick and E. A. Adelberg. 1991. *Medical Microbiology*. A Lange Medical Book. Prentice Hall International Inc. New Jersey. USA : 67-89.
- Jekti, Dwisulistya Dyah. 1996. Perbandingan Efektivitas Penularan Kuman *Helicobacter pylori* Dengan *Helicobacter muridarum*, Suatu Penelitian Eksperimental Menggunakan Mencit Balb/ C. Tesis Program Magister. Universitas Airlangga. Surabaya : 5-6.
- Johnson C. H., Rice E. W., Reasoner D. J. 1997. Abstrak : Inactivation of *Helicobacter pylori* by Chlorination. *Appl. Microbiol.* 1997 Dec; 63 (12) : 4969-70
- Lee, Adrian. 1994. The Microbiology and Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. *Scand. J. Gastroenterol* : 201 : 2-6.
- Lee, A. & O'Rourke, J. 1993 Gastric Bacteria Other Than *Helicobacter pylori*. In Dooley C and Cohen H. 1993. *Gastroenterology Clinics Of North America*. Vol. 22 : 24-39.
- Li, Y. Y., P. J. Hu., G. G. Du., and S. L. Hazell. 1991. The Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in The Peoples Republic of China. *J. Gastroenterol.* 86 : 4.
- Lindh, Gunnar. 1983. Environmental Impacts of City Growth, Urban Expansion Affects Water Quality. United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization No. 7 : 7500.
- Lindkvist, P., Wadstrom, T., Giesecke, J. 1995. *Helicobacter pylori* Infection And Foreign Travel. *J. Infect. Dis. Medline.* 1995. 172 (4) : 1135 – 6.

- Mahon, C. R., and G. J. Manuselis. 1995. Textbook of Diagnostics Microbiology. Saunders Company. London : 34-46.
- Mc. Cara, A. W., J. A. Ridell & Sir Anthony Grabham-1995. Complete Family Heath Encyclopedia. A Darling Kindersley Book. London.
- Marshall, B., R.W. Mc. Callum., and R.L. Guerrant. 1991. *Helicobacter pylori* In Peptic Ulceration and Gastritis. Blackwell Scientific Publication. London.
- Mc. Kane & Kandel,1986. Microbiology Essentials & Applications.Mc Grow Hill International Edition Life Sciences Singapore.
- Marchetti M., Arico B., Burroni D., Figura N., Rappuoli R., Ghiara P. 1995. Development Of Mouse Model Of *Helicobacter pylori* Infection That Mimics Human Disease . J. Science no .267.
- Mendz G. L., and Hazell S. L. 1995. Characterization of Glucose Transport in *Helicobacter pylori* .J. Biochim. Acta. : 1244 (2-3) : 269-76.
- Meta Equif. How Water –Well Self-Watering. 1997. Generator Microsoft Front Page. Hal :1-2.
- Meng J.,and Doyle M. P. 1997. Emerging Issues in Microbiological Food Safety. Annu. Rev. Nutr : 17 : 255-75.
- Mitchell H. M., Y. Y. Li., P. J. Hu., Q. Liu., M. Chen., G. G. Du., Z. J. Wang., A.Lee., and S. L. Hazell. 1992. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in Southern China : Identification of Early Childhood as The Critical Period for Acqusition. J. Infect. Dis. Chicago.
- Nowottny U., Heilmann K. L. 1990. Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection. J. Microbiol. 20 (4) : 180-183.
- Odum L., and anderson L. P. 1995. Investigation of *Helicobacter pylori* Ascorbic Acid Oxidating Activity. J. Immun. Med. Microbiol. : 10 (3-4) : 289-94.
- O'Morain and Buckley.1994. Non Ulcer Dyspepsia in Basic and Clinical Aspect of *Helicobacter pylori* Infection. Springer Verlag. Berlin : 345-377.
- Pelczar, M. J., dan E.C.S. Chan. 1988. Dasar – Dasar Mikrobiologi 2 . Terjemahan Ratna Siri Hadioetomo. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta. Indonesia.

- Perez-Perez G. I., Gower C. B., Blasser M. J., Effects of Cations on *Helicobacter pylori* Urease activity, Release and Stability. 1994. J. Infect. 62 (1) : 299-302.
- Perez Perez G. I., Olivares A. Z., Cover T. L., Blaser M. J. 1992. Characteristics of *Helicobacter pylori* Variants Selected for Urease deficiency. J. Infect. And Immun. : 60 (9) : 3658-63.
- Prasodjo, H. 1991. Penyajian Info Proyek Air Bersih Buaran. Majalah Air Minum No. 53. XIII. Edisi Juli 1991 : 4-5.
- Pretolani S. F., Bonsiniani., E. Brocci., M. Baraldine., D. Citta., S. Badinelli., E. Bazzochi., P. Pasini, and G. Gasbarrini. 1995. Non Ulcer Dyspepsia and *Helicobacter pylori* Effect on Symtoms and Gastritis. Springer Verlag. Berlin.
- Rahim, A . 1997. Aspek Mikrobiologi *Helicobacter pylori*- dalam Naskah Lengkap Semiloka Pembakuan Pemeriksaan *Helicobacter pylori* secara Patologi Anatomi (Sito-Histopatologi) di Indonesia. Surabaya 12 September 1997.
- Rathbone, B. J., and R. V. Heatley. 1992. *Helicobacter pylori* and Gastroduodenal Diseases. Oxford Blackwell Scientific Publications. London : 20-36.
- Reymunde A., Deren J., Nachamkin I., Oppenheim D., and Weinbaum G. 1993. Production of Chemoattractan by *Helicobacter pylori*. J. Science.: 38 (9): 1697-701.
- Rump H.H., and Krist.1992. Laboratory Manual for The Examination of Waste Water and Soil. Second Edition. Cambridge. England : 40-55.
- Setiadi, Soedjono. 1994. Kebutuhan Oksigen dan Penguraian Material Organik Oleh Mikroba Dalam Saluran Air Limbah. Majalah IPTEK ITS Vol. 5 No. 2. Edisi November 1994: 137-138.
- Shahamat M., Mai U., Paszko Kolva C., Kessel M., and Colwell R. R. 1993. Use of radiography to Asses Viability of *Helicobacter pylori* in Water. J. App. Env. Microbiology : 59 (4) : 1231-5.
- Skirrow, M. B. 1992. *Campylobacter* and *Helicobacter* in Greenwood, D.; R. Slock And J. Pentheren. 1992. Medical Microbiology a Guide to Microbial Infections, Patogenesis, Immunity. Lab Diagnosis and Control. Churchill Livingstone. London.

- Soemirat J. dan Ardiana R. 1991. Air Minum. Edisi Oktober 1991.No. 54.
- Sonnenberg, A. 1995. Peptic Puzzles. *Europ. J. Gastroenterol. And Hepatol.* 7 : 379-381.
- Soewignjo., E. Y. Wenny., dan Z. Muttaqin. 1993. Penelitian Epidemiologik Infeksi *Helicobacter pylori* di Mataram. *Dexa Media.* 3 : 25-27.
- Soewignjo, Zainul Muttaqin, dan I Ketut Muliarta. 1994. Infeksi Suatu Bakteri Spiral Pada Lambung Mencit Sebagai Model Untuk Studi Infeksi *Helicobacter pylori* Pada Lambung Manusia Dalam *Jurnal RSU Mataram* Volum 6, Nomor 2, 1994.
- Soewignjo, 1995. Suatu Revolusi di Bidang Gastroenterologi dalam Seminar Nasional *Helicobacter pylori* dan Penyakit Gastroduodenal. Denpasar. Bali.
- Soewignjo. 1997. Diagnosa Infeksi *Helicobacter pylori*. UPD & URB RSU Mataram. Semiloka Pembakuan Pemeriksaan *Helicobacter pylori* Secara Patologi anatomi. 12 September 1997. Hal : 1-2.
- Suata, K., dan G. N. Suyasa. 1995. *Helicobacter pylori* : Aspek Mikrobiologis dan Pola Kepekaannya Terhadap Antimikroba dalam Seminar Nasional *Helicobacter pylori* Dan Penyakit Gastroduodenal. Kelompok Studi *Helicobacter pylori* Fakultas Kedokteran Unud. Denpasar Bali.
- Suriawiria, U. 1993. Mikrobiologi Air. Edisi kedua. Penerbit Alumni Press. Bandung.
- Verma K. V. R. Swaminathan T., and Subramany V. R. 1990. Heavymetals Rresidual With lignins. *J. Environment. Sci.* : 25 (3) : 243.
- Widiadi, Jusak. 1993. Penentuan Tingkat Pencemaran Badan Air Dengan Metode Biologis. *Majalah IPTEK ITS* No. 2. Vol. 4. Edisi November 1993 : 116-117.
- Widiadi, Jusak . 1993. Kualitas dan Evaluasi Air di Daerah Magetan. Lembaga Penelitian ITS : 155.
- Winarno, F. G. 1986. AIR. P.T. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta : 44-47.

West AP, Millar MR, Tompkins DS, 1992. Effect Of Physical Environment On Survival Of *Helicobacter pylori* . J.Clin.Pathol, 40 : 353 – 358

West AP, Millar MR, Tompkins DS, 1990. Survival of *Helicobacter pylori* in Water and Saline. J. Clin. Pathol, ; 43 : 609




Standar Mc. Farland (Barium-Sulfat)

Tabung	1 % BaCl ₂	1 % H ₂ SO ₄	Absorbansi	Jumlah Bakteri (juta/ml)
1	0,1	9,9	–	300
2	0,2	9,8	–	600
3	0,3	9,7	–	900
4	0,4	9,6	–	1200
5	0,5	9,5	–	1500
6	0,6	9,4	–	1800
7	0,7	9,3	–	2100
8	0,8	9,2	–	2400
9	0,9	9,1	–	2700
10	1,0	9,0	–	3000

Lampiran 1 : Standar Mc. Farland (Barium-Sulfat)



Lampiran 2: Foto Microbact 12 E

Lab No. 001		MICROBACT 12E & 12A (Single Strip) PATIENT RECORD												
Reaction	Glucose	Methyl	Mitral	Lysine	Oxidase	Indole	CO ₂	Adenine	X-Phe	DNase	Urease	VP	Citrate	TDA
Result	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Reaction Index	2	2	1	0	2	2	1	2	2	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions	6			7			6			0				
Patient's Name <u>J. SMITH</u>		Case No. <u>6760</u>												
Specimen Type <u>M.SRU</u>		Date <u>5-3-88</u>												
Date <u>5-3-88</u>		Final Identification <u>95% E. coli</u> <u>4% E. coli - inactive</u>												
		DISPOSABLE PRODUCTS PTY. LTD. ADELAIDE, SOUTH AUSTRALIA												

Lampiran 3. : Perhitungan Angka Oktal

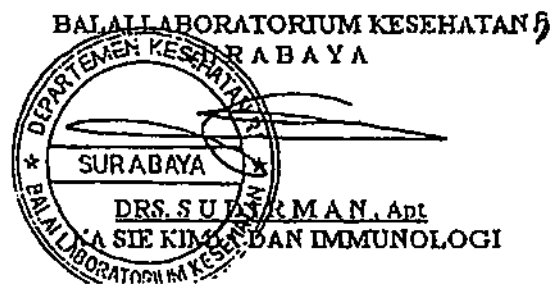
DEPARTEMEN KESEHATAN R.I
BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA
 Jl. Karangmenjangan no. 18 Surabaya - Telp. Kepala Lab. 5340708 TU 5341451 Fax. 5341452

Surabaya, 22 Oktober 1998

Nomor : 15/051/Bhu/X/98
 Jenis bahan : Yang bersangkutan
 Tanggal pengambilan : 12 - Oktober - 1998
 Diterima di BLK tgl : 12 - Oktober - 1998
 Asal Bahan : 3 contoh Air (Air limbah , Air Sumur dan Air PDAM)
 Dikirim oleh : Sdr. Moeliarta Roekiandari (Uco)
 Pascasarjana Universitas Airlangga

HASIL PEMERIKSAAN KIMIA

Parameter	Satuan	Air Limbah	Air Sumur	Air PDAM
pH		7,60	6,90	7,50
Nitrit (NO ₂)	ppm	0,11	0,02	0,001
Nitrat (NO ₃)	ppm	1,78	2,16	2,38
Amonium (NH ₄)	ppm	0,22	0,14	0,0
Natrium (Na)	ppm	28,45	21,14	25,80
Chlorida (Cl ⁻)	ppm	19,27	14,56	12,96
Tinbal (Pb)	ppm	0,0	0,0	0,0
Seng (Zn)	ppm	0,086	0,506	0,086



Lampiran 4. Hasil Pemeriksaan Kimia Awal Di Departemen Kesehatan
 R I Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.

**DEPARTEMEN KESEHATAN R.I
BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA**

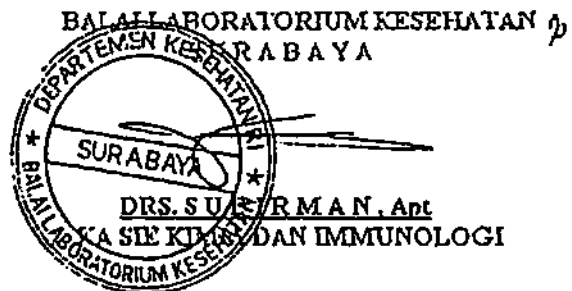
Jl. Karangmenjangan no.18 Surabaya - Telp. Kepala Lab.5340708 TU 5341451 Fax.5341452

Surabaya, 23 Nopember 1998

Nomor : 22 /051/Bhn/XI/98
 Jenis bahan : Yang bersangkutan
 Tanggal pengambilan : 10 - Nopember - 1998
 Diterima di BLK tgl : 10 - Nopember - 1998
 Asal Bahan : 3 contoh Air (Air limbah, Air Sumur dan Air PDAM)
 Dikirim oleh : Sdr. Moellartia Roeklandari (Uce)
 Pascasarjana Universitas Airlangga

HASIL PEMERIKSAAN KIMIA

Parameter	Satuan	Air Limbah	Air Sumur	Air PDAM
pH		7,80	7,20	7,40
Nitrit (NO ₂)	ppm	0,144	0,0	0,024
Nitrat (NO ₃)	ppm	1,84	2,32	2,38
Amonium (NH ₄)	ppm	0,20	0,16	0,0
Natrium (Na)	ppm	29,44	23,0	27,6
Chlorida (Cl ⁻)	ppm	17,91	12,79	17,91
Tinbal (Pb)	ppm	0,0	0,0	0,0
Seng (Zn)	ppm	0,089	0,407	0,082



Lampiran 5. Hasil Pemeriksaan Kimia Akhir Di Departemen Kesehatan R I Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya

A:\uto.sav

	kel	sel0	sel3	sel6	sel9	sel12
1	kontrol	290	250	185	100	90
2	kontrol	285	245	190	95	90
3	kontrol	290	245	185	100	85
4	sumur	290	215	250	15	11
5	sumur	250	175	235	90	10
6	sumur	280	250	280	35	0
7	sumur	180	290	210	58	4
8	sumur	250	275	175	21	0
9	limbah dom	185	250	60	0	0
10	limbah dom	270	215	85	18	8
11	limbah dom	190	270	80	9	0
12	limbah dom	180	190	60	0	0
13	limbah dom	215	215	55	0	6
14	pdam urea	270	210	50	17	0
15	pdam urea	295	185	67	0	0
16	pdam urea	280	280	54	21	0
17	pdam urea	210	170	75	0	0
18	pdam urea	200	210	65	10	0

Lampiran 6. Analisis Regresi Lengkap , Analisis Varian Univariate dan Multivariate dengan Uji Scheffe dan Uji F

Jumlah Sel *Helicobacter pylori*
MENURUT HARI PENGAMATAN
PADA BEBERAPA MEDIA

	kelompok media							
	kontrol		sumur		limbah dom		pdam urea	
	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev	Mean	Std Dev
HARI 0	288	3	250	43	208	37	251	43
HARI 3	247	3	241	47	228	32	211	42
HARI 6	187	3	230	40	68	14	62	10
HARI 9	98	3	43	30	5	8	10	10
HARI 12	88	3	5	5	3	4	0	0

**UJI T PASANGAN ANTAR WAKTU PENGAMATAN
PADA KELOMPOK KONTROL
(Mean Beda jumlah H.Pylori)
(peluang kesalahan)**

HARI PENGAMATAN	HARI PENGAMATAN			
	3	6	9	12
0	41.667 0.002	101.667 0.000	190.000 0.000	200.000 0.000
3		60.000 0.002	148.333 0.000	158.333 0.000
6			88.333 0.001	98.333 0.000
9				10.000 0.074

**UJI T PASANGAN ANTAR WAKTU PENGAMATAN
PADA MEDIA AJR SUMUR
(Mean Beda Jumlah H.Pylori)
(peluang kesalahan)**

HARI PENGAMATAN	HARI PENGAMATAN			
	3	6	9	12
0	9.000 0.810	20.000 0.324	206.600 0.002	245.000 0.000
3		11.000 0.754	197.600 0.003	236.000 0.000
6			186.600 0.001	225.000 0.000
9				38.400 0.042

**UJI T PASANGAN ANTAR WAKTU PENGAMATAN
PADA MEDIA AIR LIMBAH
(Mean Beda jumlah H. Pylori)
(peluang kesalahan)**

HARI PENGAMATAN	HARI PENGAMATAN			
	3	6	9	12
0	-20.000 0.456	140.000 0.001	202.600 0.000	205.200 0.000
3		160.000 0.000	222.600 0.000	225.200 0.000
6			62.600 0.000	65.200 0.000
9				2.600 0.439

POLYNOMIAL TEST OF ORDER 4

SOURCE	SS	DF	MS	F	P
Waktu -	25.813	1	25.813	0.028	0.870
Waktu*KEL	30095.071	3	10031.690	10.859	0.001
ERROR	12933.135	14	923.795		

Perbedaan antar kelompok

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
SEL0	12783.333	3	4261.111	2.929	0.070
ERROR	20366.667	14	1454.762		
SEL3	3263.333	3	1087.778	0.768	0.531
ERROR	19836.667	14	1416.905		
SEL6	101813.033	3	33937.678	63.287	0.000
ERROR	7507.467	14	536.248		
SEL9	19890.011	3	6630.004	21.317	0.000
ERROR	4354.267	14	311.019		
SEL12	18438.311	3	6146.104	454.146	0.000
ERROR	189.467	14	13.533		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 162.586
 F-STATISTIC = 93.939 DF = 15, 26 PROB = 0.000

Perbandingan antar perlakuan 1 dan 2

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
SEL0	2755.208	1	2755.208	1.894	0.190
ERROR	20366.667	14	1454.762		
SEL3	60.208	1	60.208	0.042	0.840
ERROR	19836.667	14	1416.905		
SEL6	3520.833	1	3520.833	6.566	0.023
ERROR	7507.467	14	536.248		
SEL9	5658.133	1	5658.133	18.192	0.001
ERROR	4354.267	14	311.019		
SEL12	13020.833	1	13020.833	962.131	0.000
ERROR	189.467	14	13.533		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 102.934
 F-STATISTIC = 205.868 DF = 5, 10 PROB = 0.000

Perbandingan antar perlakuan 1 dan 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
SEL0	12100.208	1	12100.208	8.318	0.012
ERROR	20366.667	14	1454.762		
SEL3	653.333	1	653.333	0.461	0.508
ERROR	19836.667	14	1416.905		
SEL6	26403.333	1	26403.333	49.237	0.000
ERROR	7507.467	14	536.248		
SEL9	16193.633	1	16193.633	52.066	0.000
ERROR	4354.267	14	311.019		
SEL12	13717.408	1	13717.408	1013.602	0.000
ERROR	189.467	14	13.533		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 108.789
 F-STATISTIC = 217.577 DF = 5, 10 PROB = 0.000

Perbandingan antar perlakuan 1 dan 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
SEL0	2613.333	1	2613.333	1.796	0.201
ERROR	20366.667	14	1454.762		
SEL3	2385.208	1	2385.208	1.683	0.215
ERROR	19836.667	14	1416.905		
SEL6	29047.408	1	29047.408	54.168	0.000
ERROR	7507.467	14	536.248		
SEL9	14763.008	1	14763.008	47.467	0.000
ERROR	4354.267	14	311.019		
SEL12	14630.208	1	14630.208	1081.050	0.000
ERROR	189.467	14	13.533		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 122.585
 F-STATISTIC = 245.169 DF = 5, 10 PROB = 0.000

Perbandingan antar perlakuan 2 dan 3

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
SELO	4410.000	1	4410.000	3.031	0.104
ERROR	20366.667	14	1454.762		
SEL3	422.500	1	422.500	0.298	0.594
ERROR	19836.667	14	1416.905		
SEL6	65610.000	1	65610.000	122.350	0.000
ERROR	7507.467	14	536.248		
SEL9	3610.000	1	3610.000	11.607	0.004
ERROR	4354.267	14	311.019		
SEL12	12.100	1	12.100	0.894	0.360
ERROR	189.467	14	13.533		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 10.960
 F-STATISTIC = 21.920 DF = 5, 10 PROB = 0.000

Perbandingan antar perlakuan 2 dan 4

UNIVARIATE F TESTS

VARIABLE	SS	DF	MS	F	P
SELO	2.500	1	2.500	0.002	0.968
ERROR	20366.667	14	1454.762		
SEL3	2250.000	1	2250.000	1.588	0.228
ERROR	19836.667	14	1416.905		
SEL6	70392.100	1	70392.100	131.268	0.000
ERROR	7507.467	14	536.248		
SEL9	2856.100	1	2856.100	9.183	0.009
ERROR	4354.267	14	311.019		
SEL12	62.500	1	62.500	4.618	0.050
ERROR	189.467	14	13.533		

MULTIVARIATE TEST STATISTICS

HOTELLING-LAWLEY TRACE = 13.312
 F-STATISTIC = 26.623 DF = 5, 10 PROB = 0.000

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

KEL = KONTROL

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL3 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 41.667
 SD DIFFERENCE = 2.887
 T = 25.000 DF = 2 PROB = 0.002

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL6 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 101.667
 SD DIFFERENCE = 5.774
 T = 30.500 DF = 2 PROB = 0.001

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL6 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 60.000
 SD DIFFERENCE = 5.000
 T = 20.785 DF = 2 PROB = 0.002

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL9 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 190.000
 SD DIFFERENCE = 0.000
 INSUFFICIENT DATA FOR TEST

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL9 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 148.333
 SD DIFFERENCE = 2.887
 T = 89.000 DF = 2 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL6 VS SEL9 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 88.333
 SD DIFFERENCE = 5.774
 T = 26.500 DF = 2 PROB = 0.001

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL12 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 200.000
 SD DIFFERENCE = 5.000
 T = 69.282 DF = 2 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL12 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 158.333
 SD DIFFERENCE = 2.887
 T = 95.000 DF = 2 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL6 VS SEL12 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 98.333
 SD DIFFERENCE = 2.887
 T = 59.000 DF = 2 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL9 VS SEL12 WITH 3 CASES

MEAN DIFFERENCE = 10.000
 SD DIFFERENCE = 5.000
 T = 3.464 DF = 2 PROB = 0.074

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

KEL = AIR SUMUR

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL3 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 9.000
 SD DIFFERENCE = 78.214
 T = 0.257 DF = 4 PROB = 0.810

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL6 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 20.000
 SD DIFFERENCE = 39.843
 T = 1.122 DF = 4 PROB = 0.324

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL6 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 11.000
 SD DIFFERENCE = 73.348
 T = 0.335 DF = 4 PROB = 0.754

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL9 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 206.600
 SD DIFFERENCE = 62.548
 T = 7.386 DF = 4 PROB = 0.002

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL9 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 197.600
 SD DIFFERENCE = 66.131
 T = 6.681 DF = 4 PROB = 0.003

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL6 VS SEL9 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 186.600
 SD DIFFERENCE = 49.013
 T = 8.513 DF = 4 PROB = 0.001

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 245.000
 SD DIFFERENCE = 42.403
 T = 12.920 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 236.000
 SD DIFFERENCE = 50.700
 T = 10.409 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL6 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 225.000
 SD DIFFERENCE = 38.994
 T = 12.903 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL9 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 38.400
 SD DIFFERENCE = 29.211
 T = 2.939 DF = 4 PROB = 0.042

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:
 KEL = AIR LIMBAH

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL3 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = -20.000
 SD DIFFERENCE = 54.199
 T = -0.825 DF = 4 PROB = 0.456

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL6 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 140.000
 SD DIFFERENCE = 31.425
 T = 9.962 DF = 4 PROB = 0.001

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL6 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 160.000
 SD DIFFERENCE = 30.000
 T = 11.926 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL9 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 202.600
 SD DIFFERENCE = 31.150
 T = 14.544 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL9 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 222.600
 SD DIFFERENCE = 31.628
 T = 15.738 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL6 VS SEL9 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 62.600
 SD DIFFERENCE = 6.348
 T = 22.050 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 205.200
 SD DIFFERENCE = 33.596
 T = 13.658 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL0 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 250.800
 SD DIFFERENCE = 42.816
 T = 13.098 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL3 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 210.800
 SD DIFFERENCE = 42.346
 T = 11.131 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL6 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 62.000
 SD DIFFERENCE = 10.025
 T = 13.829 DF = 4 PROB = 0.000

PAIRED SAMPLES T-TEST ON SEL9 VS SEL12 WITH 5 CASES

MEAN DIFFERENCE = 9.400
 SD DIFFERENCE = 9.864
 T = 2.131 DF = 4 PROB = 0.100

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.919 SQUARED MULTIPLE R: 0.845

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	54545.653	3	18181.884	9.608	0.000
WAKTU	757172.296	1	757172.296	400.125	0.000
NIT1	12814.808	1	12814.808	6.772	0.011
ERROR	158956.413	84	1892.338		

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.920 SQUARED MULTIPLE R: 0.846

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	28702.853	3	9567.618	5.024	0.003
WAKTU	513530.434	1	513530.434	269.657	0.000
NIT1	8593.788	1	8593.788	4.513	0.037
NITRAT	892.628	1	892.628	0.469	0.495
ERROR	158063.785	83	1904.383		

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.920 SQUARED MULTIPLE R: 0.846

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	4212.979	3	1404.326	0.729	0.538
WAKTU	510866.438	1	510866.438	265.034	0.000
NIT1	5412.646	1	5412.646	2.808	0.098
NITRAT	246.058	1	246.058	0.128	0.722
AMMON	4.790	1	4.790	0.002	0.960
ERROR	158058.995	82	1927.549		

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.920 SQUARED MULTIPLE R: 0.846

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	45529.177	3	15176.392	7.957	0.000
WAKTU	599433.890	1	599433.890	314.286	0.000
NIT1	5889.363	1	5889.363	3.088	0.083
AMMON	651.360	1	651.360	0.342	0.561
ERROR	158305.053	83	1907.290		

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.919 SQUARED MULTIPLE R: 0.845

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	20596.743	3	6865.581	3.586	0.017
WAKTU	757165.830	1	757165.830	395.436	0.000
NIT1	10312.094	1	10312.094	5.386	0.023
CL	31.315	1	31.315	0.016	0.899
ERROR	158925.098	83	1914.760		

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.920 SQUARED MULTIPLE R: 0.846

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	20634.342	3	6878.114	3.568	0.018
WAKTU	510866.438	1	510866.438	265.034	0.000
NIT1	10005.370	1	10005.370	5.191	0.025
CL	1.572	1	1.572	0.001	0.977
NAT	866.103	1	866.103	0.449	0.505
ERROR	158058.995	82	1927.549		

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.920 SQUARED MULTIPLE R: 0.846

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	11929.204	3	3976.401	2.063	0.111
WAKTU	510866.438	1	510866.438	265.034	0.000
NIT1	10084.837	1	10084.837	5.232	0.025
CL	98.642	1	98.642	0.051	0.822
ZN	866.103	1	866.103	0.449	0.505
ERROR	158058.995	82	1927.549		

LEVELS ENCOUNTERED DURING PROCESSING ARE:

KEL

1.000 2.000 3.000 4.000

DEP VAR: SEL N: 90 MULTIPLE R: 0.919 SQUARED MULTIPLE R: 0.845

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
KEL	54545.653	3	18181.884	9.608	0.000
WAKTU	757172.296	1	757172.296	400.125	0.000
NIT1	12814.808	1	12814.808	6.772	0.011
ERROR	158956.413	84	1892.338		

ADJUSTED LEAST SQUARES MEANS.

		ADJ. LS MEAN	SE	N
KEL	=	1.000	123.660	15
KEL	=	2.000	101.074	25
KEL	=	3.000	222.832	25
KEL	=	4.000	73.978	25



COL/ ROW	KEL
1	1.000
2	2.000
3	3.000
4	4.000

USING LEAST SQUARES MEANS.

POST HOC TEST OF SEL

USING MODEL MSE OF 1892.338 WITH 84. DF.

MATRIX OF PAIRWISE MEAN DIFFERENCES:

	1	2	3	4
1	0.000			
2	-22.586	0.000		
3	99.172	121.757	0.000	
4	-49.681	-27.096	-148.853	0.000

FISHER'S LEAST-SIGNIFICANT-DIFFERENCE TEST.

MATRIX OF PAIRWISE COMPARISON PROBABILITIES:

	1	2	3	4
1	1.000			
2	0.119	1.000		
3	0.160	0.076	1.000	
4	0.005	0.065	0.015	1.000

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

KEL = AIR PDAM

DEP VAR: SEL N: 25 MULTIPLE R: 0.943 SQUARED MULTIPLE R: 0.890
 ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R: .880 STANDARD ERROR OF ESTIMATE: 37.902

VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)
CONSTANT	269.869	15.952	0.000	.	16.917	0.000
WAKTU	-38.399	6.299	-1.518	0.080	-6.096	0.000
WAKTU2	1.246	0.503	0.617	0.080	2.476	0.021

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
REGRESSION	256188.994	2	128094.497	89.170	0.000
RESIDUAL	31603.566	22	1436.526		

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

KEL = AIR LIMBAH

DEP VAR: SEL N: 25 MULTIPLE R: 0.901 SQUARED MULTIPLE R: 0.812
 ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R: .795 STANDARD ERROR OF ESTIMATE: 45.969

VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)
CONSTANT	236.497	19.347	0.000	.	12.224	0.000
WAKTU	-26.071	7.640	-1.111	0.080	-3.413	0.002
WAKTU2	0.414	0.610	0.221	0.080	0.679	0.504

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	P
REGRESSION	201317.657	2	100658.829	47.635	0.000
RESIDUAL	46488.503	22	2113.114		

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:

KEL - AIR SUMUR

DEP VAR: SEL N: 25 MULTIPLE R: 0.907 SQUARED MULTIPLE R: 0.823
 ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R: .807 STANDARD ERROR OF ESTIMATE: 50.088

VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)
CONSTANT	257.914	21.081	0.000	.	12.234	0.000
WAKTU	-0.596	8.324	-0.023	0.080	-0.072	0.944
WAKTU2	-1.860	0.665	-0.885	0.080	-2.797	0.011

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	F
REGRESSION	256019.509	2	128009.754	51.025	0.000
RESIDUAL	55193.131	22	2508.779		

THE FOLLOWING RESULTS ARE FOR:
 KEL = KONTROL

DEP VAR: SEL N: 15 MULTIPLE R: 0.981 SQUARED MULTIPLE R: 0.963
 ADJUSTED SQUARED MULTIPLE R: .957 STANDARD ERROR OF ESTIMATE: 17.005

VARIABLE	COEFFICIENT	STD ERROR	STD COEF	TOLERANCE	T	P(2 TAIL)
CONSTANT	296.333	9.240	0.000	.	32.072	0.000
WAKTU	-21.611	3.648	-1.159	0.080	-5.923	0.000
WAKTU2	0.278	0.292	0.186	0.080	0.953	0.360

ANALYSIS OF VARIANCE

SOURCE	SUM-OF-SQUARES	DF	MEAN-SQUARE	F-RATIO	F
REGRESSION	90463.333	2	45231.667	156.421	0.000
RESIDUAL	3470.000	12	289.167		

UJI T PASANGAN ANTAR WAKTU PENGAMATAN
 PADA MEDIA AIR LIMBAH
 (Mean BedaJumlah H. Pylori)
 (peluang kesatahan)

HARI PENGAMATAN	HARI PENGAMATAN			
	3	6	9	12
0	40.000 0.139	188.800 0.001	241.400 0.000	250.800 0.000
3		148.800 0.003	201.400 0.000	210.800 0.000
6			52.600 0.004	62.000 0.000
9				9.400 0.100