

UJI INTERAKSI KIMIAWI PADA PROSES SORPSI *ESCHERICHIA COLI* DALAM KONDISI JENUH

EVALUATION OF CHEMICAL INTERACTION ON THE SORPTION PROCESS OF *ESCHERICHIA COLI* UNDER SATURATED CONDITIONS

Yunus Fransiscus
Pusat Studi Lingkungan -Universitas Surabaya
email: yunus@ubaya.ac.id

Abstrak

Proses melekatnya bakteri *Escherichia coli* pada media berpori dapat disebabkan oleh beberapa mekanisme. Melalui serangkaian eksperimen dengan kolom dinamik (proses kontinu) dan pasir berlapis besi sebagai kolektor, hipotesa keterlibatan reaksi pertukaran ligan dalam proses sorpsi *E. coli* didukung dengan beberapa indikasi, yaitu kenaikan pH, sedikitnya jumlah *E. coli* yang terlepas pada proses desorpsi, tidak adanya efek signifikan dari tingkatan ionik dan pH larutan pada proses desorpsi, serta menurunnya jumlah *E. coli* yang teradsorpsi saat berkompetisi dengan fosfat. Walaupun demikian, dari kurva *breakthrough* dapat disimpulkan bahwa ikatan kimia bukanlah satu-satunya mekanisme yang terlibat pada proses sorpsi. Penelitian ini memberikan indikasi yang kuat bahwa proses melekatnya *E. coli* pada media berpori dapat dijelaskan tidak sebatas menggunakan teori Darjaguin, Landau, Verwey dan Overbeek (DLVO).

Kata kunci: *Escherichia coli*, kolom dinamik, pertukaran ligan, pasir berlapis besi

Abstract

A study to describe the sorption characteristic of *Escherichia coli* was carried out in dynamic column experiments. Iron coated sand was used as the collector and phosphate was used to evaluate the attachment mechanism. The hypothesis that ligand exchange played significant role in the attachment mechanism was supported by observation of several phenomena: pH increase during the process, less detachment during the desorption, no significant effect of ionic strength and pH of the solution, and less attachment of *E. coli* in competition with phosphate. However, from the breakthrough curves it was indicated that ligand exchange was not the only process involved. The results gave an indication that bacterial retention in solid-liquid interface can be explained beyond the DLVO theory.

Keywords: *Escherichia coli*, dynamic column, ligand exchange, iron coated sand

1. PENDAHULUAN

Pemanfaatan air tanah dalam berbagai aktivitas utama manusia semakin mengalami peningkatan yang berarti. Di negara-negara berkembang seperti di Asia, Afrika dan Amerika Latin diperkirakan 1,3 milyar penduduk perkotaan memanfaatkan air tanah sebagai bahan baku air minum (Foppen dan Schijven, 2005). Kondisi serupa terjadi di Amerika, dimana hampir separuh penduduknya bergantung pada air tanah untuk sumber air minum dan aktivitas lainnya (Cunningham dkk., 2005). Resiko kontaminasi air tanah sangat tinggi dengan makin beragamnya aktivitas manusia. Kontaminasi dapat berasal dari infiltrasi limbah domestik, banyaknya sistem aliran yang tidak menunjang dan kebiasaan membuang limbah padat dan cair rumah tangga

on-site. Menurut laporan WHO (2000-2003), sekitar 80% penduduk kota-kota besar di Afrika, dan 55% di Asia, memiliki sistem sanitasi *on-site* seperti septik tank dan *cubluk*. Minimnya sarana sanitasi diperparah dengan jarak yang terlalu dekat dengan sumur. Hal ini memperbesar kemungkinan terjadinya kontaminasi patogen. Studi di Amerika mencatat sekitar 750.000-5.900.000 kasus penyakit dan tingkat kematian sebesar 1.400-9.400/tahun, akibat pemanfaatan air tanah tercemar (Foppen dan Schijven, 2006). Kasus serupa terjadi di Indonesia. Pada tahun 2005 di Propinsi Nusa Tenggara Timur, kasus diare menyebabkan 42 orang meninggal dan 2017 orang harus rawat inap. Di Gunung Kidul, Jawa Tengah, tercatat 68.735 kasus diare akibat air tanah tercemar. Kontaminasi patogen terhadap air tanah dapat juga berasal dari limbah peternakan,

rumah sakit dan pemanfaatan air limbah/kotoran sebagai pupuk. Sehubungan dengan kasus kontaminasi patogen terhadap air tanah, studi sistem transport bakteri dalam air tanah terus berkembang. Hal ini penting sebagai dasar aplikasi bioremediasi *in-situ*, filtrasi di sepanjang sempadan sungai, filtrasi di pengolahan air bersih dan air limbah, filtrasi air lindi di tempat pengumpulan sampah padat, dan sebagainya. Tujuan umum dari upaya tersebut adalah untuk memprediksi konsentrasi bakteri setelah melalui jarak tertentu.

Penelitian terdahulu menyimpulkan bahwa bakteri dapat tertahan karena tersaring, mengendap dan melekat di dalam media berpori. Dari alternatif yang ada, proses pelekatan/sorpsi diyakini sebagai mekanisme paling dominan. Teori yang paling banyak digunakan untuk menjelaskan mekanisme sorpsi ini adalah teori Darjaguin, Landau, Verwey dan Overbeek (DLVO). Proses sorpsi yang terjadi antara bakteri dan media kolektor disebabkan oleh muatan elektrostatis yang ada. Gaya tarik menarik *Van der Waals* dan gaya tolak yang dikontrol oleh *zeta potential* menjadi faktor penentu tingkatan sorpsi yang terjadi (Lukasik dkk., 1998 dan Chu dkk., 2001). Tingkatan ionik (*ionic strength*) memiliki efek signifikan terhadap proses sorpsi (Chen dan Zhu, 2004). Dengan naiknya tingkatan ionik, nilai *zeta potential* akan membesar. Kondisi ini akan membuat bakteri dan kolektor bergerak pada jarak yang makin dekat, karena semakin menipisnya *double layer*. Pada kondisi ini koefisien perpindahan massa akan semakin meningkat. Foppen and Schijven (2005), menjelaskan interaksi karena muatan elektrostatis pada media kolektor goethite dan calcite yang memiliki pH_{PZC} berbeda, 9,0-9,1 dan 9,5-10,8. Dengan kontrol pH larutan dibawah pH_{PZC} , media kolektor akan bermuatan positif, sehingga mampu menarik bakteri yang bermuatan negatif. Tingkatan sorpsi pada media calcite lebih tinggi dari *goethite*, karena calcite memiliki pH_{PZC} yang lebih tinggi, sehingga muatan positifnya lebih banyak. Walaupun proses sorpsi antara bakteri dan media berpori dapat diterangkan dengan teori DLVO, masih ada indikasi ikatan yang terjadi bukan hanya karena perbedaan muatan elektrostatis.

Dalam penelitian ini, keterlibatan reaksi kimia dalam proses sorpsi *E. coli* ke media berpori akan diuji dengan melakukan serangkaian pengamatan pada perubahan pH selama proses sorpsi, laju lepasnya *E. coli* dari kolektor pada proses desorpsi,

laju lepasnya *E. coli* pada saat desorpsi dengan tingkatan ionik dan pH yang berbeda dan laju sorpsi *E. coli* ketika berkompetisi dengan fosfat.

2. METODOLOGI

Preparasi Media Kolektor

Media yang digunakan adalah goethite dengan ukuran 0,18-0,50 mm, berat spesifik 2,43 gmL^{-1} dan porositas 0,39. Sebelum dilapis dengan besi (Fe), media ini dicuci di bawah aliran air beberapa kali sampai nilai konduktivitasnya mendekati nol ($< 1 \mu S cm^{-1}$), kemudian dikeringkan selama 12 jam. Proses pelapisan dilakukan sesuai prosedur Schwertmann, dkk (1991), dimana 250 g media dimasukkan ke dalam 1 L *aquabidest*. Gas N_2 kemudian dialirkan ke dalam media untuk menghilangkan oksigen terlarut. 13,9 g $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ ditambahkan dan botol diputar untuk melarutkan kristal besi. Setelah larut sempurna, 110 mL $NaHCO_3$, 1 M, ditambahkan dan aliran N_2 diganti dengan udara biasa. Proses oksidasi dibiarkan selama 48 jam, warna larutan akan berubah dari biru kehijauan menjadi kuning tua. Selanjutnya dilakukan penirisan untuk membuang suspensi yang ada dan media kolektor dicuci berulang kali dengan *aquabidest* sampai warna suspensi jernih. Sebelum digunakan media disimpan dalam oven pada suhu 50°C.

Preparasi *E. coli*

Larutan yang mengandung bakteri disiapkan dengan satu sendok jarum *E. coli* (ATCC 25922) yang dicampurkan dengan 50 mL *nutrient broth*. Campuran ini digoyang selama 24 jam pada 37°C. Konsentrasi awal larutan bakteri dihitung dengan analisis *plate* selama beberapa kali. Hasil yang didapatkan adalah $1,8 \cdot 10^9 - 2,4 \cdot 10^9$ *E. coli*. mL^{-1} . Larutan yang diumpankan ke dalam kolom, dibagi dua, yaitu yang diencerkan 2 kali (disebut C_0 tinggi) dan yang diencerkan 10 kali (C_0 rendah). Larutan ini dijaga tingkatan ioniknya pada 0,015 M dengan $NaNO_3$. Sebelum digunakan larutan dicuci dan *dicentrifuge* selama 15 menit pada 3000 rpm. Perlakuan ini dilakukan tiga kali untuk setiap preparasi larutan umpan.

Kolom Dinamik

Untuk menguji keterlibatan interaksi kimia dalam proses sorpsi, digunakan kolom dinamik. Larutan umpan dialirkan dari atas melalui media kolektor di dalam kolom sebelum dipompakan ke botol sampel. Pada eksperimen pengamatan pH, efluen dialirkan

ke botol perantara terlebih dahulu untuk diukur pHnya secara kontinu. Larutan umpan dijaga homogenitasnya dengan meletakkannya di atas *magnetic stirrer*. Secara garis besar penelitian dibedakan menjadi 4, yaitu pengamatan *trend* pH pada proses sorpsi *E.coli*, proses sorpsi *E.coli* pada tingkatan ionik yang lebih rendah, *dettachment test*, dan proses sorpsi *E.coli* berkompetisi dengan fosfat. Semua variasi proses sorpsi diikuti dengan proses desorpsi dengan larutan NaNO_3 (kecuali pada *dettachment test*). Setiap variasi eksperimen dilakukan duplo (beberapa percobaan dilakukan lebih dari dua kali). Kecepatan aliran melalui media kolektor dijaga konstan pada $0,5 \text{ mL min}^{-1}$.

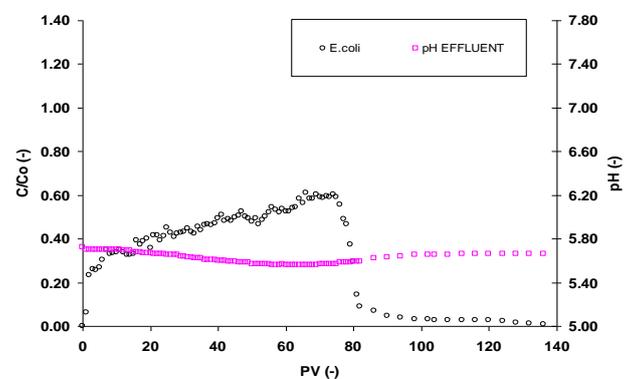
Analisis Sampel

Sampel diambil pada setiap *pore volume* (PV). Satu PV didapatkan dengan mengumpulkan sampel selama 2 menit. Analisis konsentrasi *E. coli* pada efluen dilakukan dengan UV-Spektrofotometer (CECIL-CE 1021, 1000 series), pada panjang gelombang 254 nm. Analisis konsentrasi fosfat dilakukan dengan *Ion Chromatography* (ICS-1000, Dionex). Hasil analisis digambarkan dalam kurva *breakthrough* yang akan dipakai untuk menerangkan mekanisme sorpsi *E. coli*. Analisis total Fe dilakukan untuk mengetahui kemungkinan terlarutnya/terlepasnya Fe dari permukaan media. Hal ini dilakukan pada proses sorpsi *E. coli* dengan C_0 tinggi. Analisis Fe dilakukan dengan *Atomic Absorbance Spectrometer* Perkin Elmer, AAS 3110.

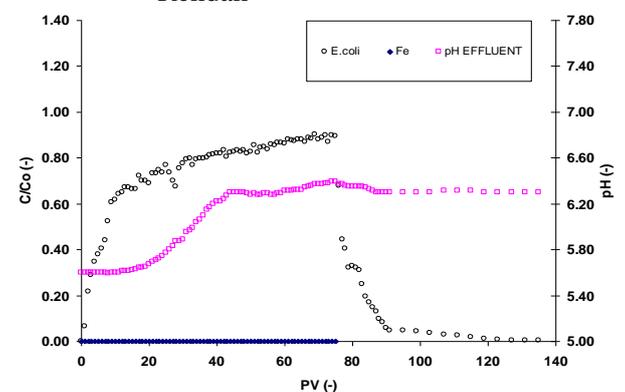
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme sorpsi *E. coli*. Dari hasil eksperimen proses sorpsi *E. coli* yang diikuti dengan proses desorpsi dengan larutan NaNO_3 didapatkan beberapa indikator penting mengenai mekanisme sorpsi yang terjadi. Gambar 1 dan 2 menunjukkan proses sorpsi *E. coli* ke media kolektor dibarengi dengan perubahan pH pada larutan efluen. *Trend* perubahan pH dapat dilihat dengan jelas pada larutan dengan konsentrasi awal *E. coli* yang tinggi, $10^9 \text{ E. coli mL}^{-1}$ (C_0 tinggi). Gambar 2 menunjukkan konsentrasi Fe dalam $C/C_0 = 0.5 \text{ mgL}^{-1}$ dipakai sebagai nilai C_0 . Nilai pH larutan beranjak naik pada awal proses, ketika kurva *breakthrough* mencapai fase jenuh, pergerakan pH cenderung konstan (Gambar 2). Pada bagian terluar *E. coli* terdapat gugus lipopolisakarida (LPS), yang merupakan faktor kunci dalam proses sorpsi bakteri ke permukaan kolektor (Foppen dan

Schijven, 2006 dan Walker *dkk.*, 2004). Membran terluar ini memiliki rantai oligosakarida yang terdiri atas gugus karboksilat bermuatan negatif. Berdasarkan informasi ini, sangat mungkin gugus hidroksil yang terdapat pada permukaan kolektor diganti dengan gugus karboksilat dari bakteri, dimana pergantian ini menghasilkan perubahan pH larutan. Pada C_0 tinggi, terdapat LPS yang lebih banyak sehingga semakin banyak gugus hidroksil yang dapat tergantikan. Hal ini menjelaskan pada C_0 rendah, perubahan pH yang terjadi selama proses sorpsi tidak begitu jelas pada rentang waktu yang sama. Pada proses desorpsi dengan NaNO_3 pada C_0 tinggi dan C_0 rendah, didapati jumlah *E. coli* yang terlepas tidak signifikan. Nitrat dikenal sebagai *non-specifically adsorbing anion* yang mudah terserap oleh permukaan mineral dengan muatan berlawanan. Ikatan nitrat dengan ion lawannya umumnya terjadi di bagian luar permukaan mineral (*diffuse layer*), atau ikatan yang terjadi adalah ikatan pasangan/elektrostatik biasa yang mudah tergantikan. Dengan demikian bila ikatan *E. coli* pada *goethite* adalah ikatan yang sejenis dengan nitrat, maka pada proses desorpsi diharapkan laju lepasnya *E. coli* cukup signifikan. Hal ini mengindikasikan berlangsungnya proses sorpsi *E. coli* ke media kolektor secara spesifik/ kimiawi.



Gambar 1. Kurva *Breakthrough E. Coli*, C_0 Rendah



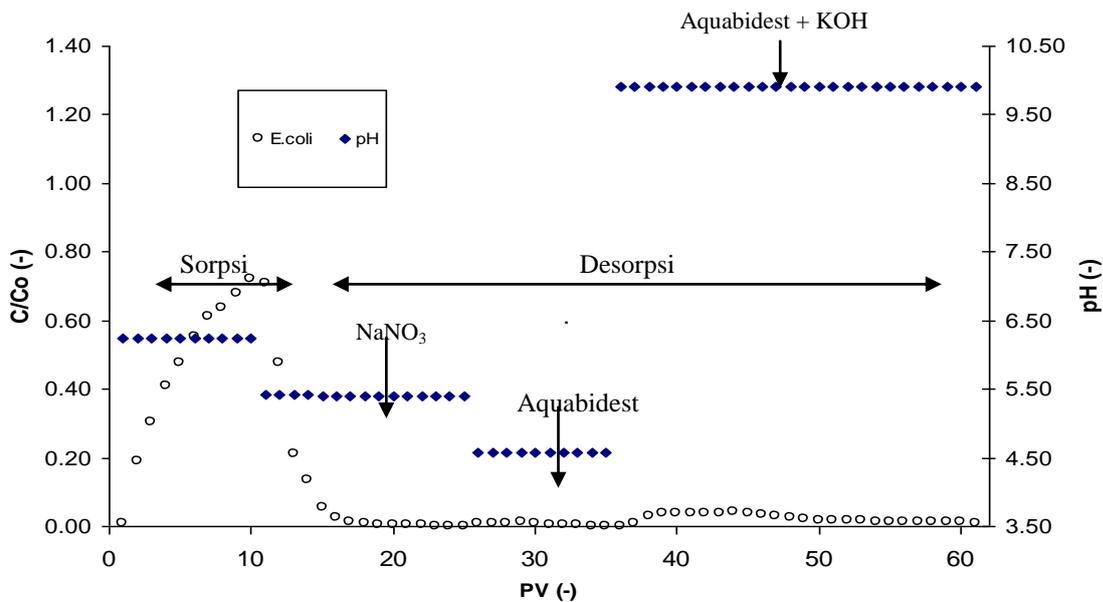
Gambar 2. Kurva *Breakthrough E. coli*, C_0 Tinggi

Analisis Fe pada variasi C_0 tinggi menunjukkan tidak adanya Fe yang terlepas dari permukaan kolektor. Hasil ini mengindikasikan bahwa Fe sebagai sisi aktif yang berperan penting dalam mengikat ligan yang memiliki muatan berlawanan. Selain itu, tidak adanya Fe yang terlarut, memperkuat indikasi kenaikan pH selama proses sorpsi disebabkan oleh terlepasnya gugus hidroksil dari permukaan kolektor ke dalam larutan.

Efek pH pada mekanisme sorpsi *E. coli*

pH merupakan faktor yang sangat penting dalam menentukan interaksi partikel koloid dengan permukaan bermuatan. pH isoelektrik point (pH_{iep}) atau disebut juga pH *point of zero charge* (pH_{pzc}) adalah pH dimana muatan positif dan negatif yang timbul dari suatu sistem berada pada kondisi setimbang (muatan totalnya netral). pH_{pzc} dari *goethite* adalah 9 (Foppen dan Schijven, 2005), ini berarti jika pH larutan berada dibawah pH_{pzc} , permukaan kolektor akan bermuatan positif sehingga mampu menarik partikel yang bermuatan negatif. Sebaliknya jika pH larutan berada diatas pH_{pzc} permukaan kolektor akan bermuatan negatif yang akibatnya akan menolak partikel yang bermuatan sejenis. Pada Gambar 3, sodium nitrat dan aquabidest yang masing-masing memiliki pH 5,4 dan 4,5 tidak memberikan efek yang signifikan (dapat diabaikan), walaupun dalam hal tingkatan ionik dua larutan ini memiliki nilai yang rendah. Yang menarik adalah ketika proses desorpsi

dilakukan dengan menggunakan *aquabidest* + KOH, yang pHnya 10, laju lepasnya *E. coli* dari *goethite* juga tidak signifikan. Dari hasil ini, dapat dikatakan bahwa ikatan antara *E. coli* dan *goethite* tidak tergantung pada pH. Hal ini merupakan indikasi bahwa mekanisme ikatan yang terjadi dapat dijelaskan tidak hanya berdasarkan perbedaan muatan elektrostatis saja. Berkaitan dengan kemungkinan *lysis* sel *E. coli* karena kontak dengan larutan ber-pH tinggi, secara teoritis proses inaktivasi akan menurunkan tingkatan sorpsi antara *E.coli* dengan media kolektornya (Foppen and Schijven, 2006). Tetapi pada percobaan ini fenomena penurunan tingkatan sorpsi karena kontak dengan *aquabidest* + KOH yang memiliki pH 10 tidak nampak. Terlepas dari hasil yang didapatkan, investigasi pengaruh pH terhadap laju inaktivasi patogen merupakan salah satu topik yang menarik untuk ditindaklanjuti mengingat inaktivasi merupakan salah satu faktor penting yang mempengaruhi laju *transport* patogen khususnya di area sub-surface. Indikasi terlarutnya Fe dari media kolektor bisa dikatakan negatif pada variasi percobaan ini. Sebagai sisi aktif yang bermuatan positif, Fe bertanggung jawab dalam mengikat gugus karboksilik dari *E. coli*. Apabila sisi aktif ini terlepas dari permukaan kolektor, maka gugus karboksilik bermuatan negatif dari *E. coli* juga akan terlepas, konsekuensinya laju desorpsi akan naik tetapi hal ini tidak teramati pada hasil eksperimen yang telah dilakukan.



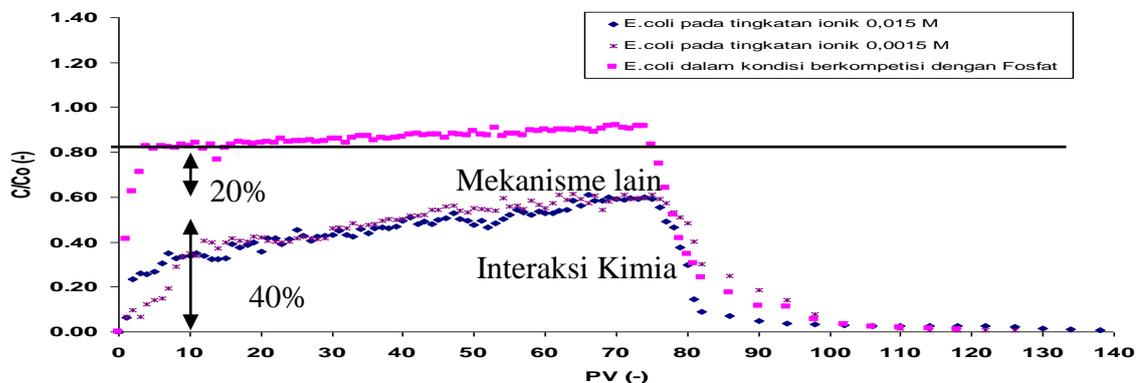
Gambar 3. Kurva Breakthrough *E.Coli* pada *Detachment Test* dengan Tiga Larutan yang Berbeda

Efek Tingkatan Ionik Pada Mekanisme Sorpsi *E. Coli*

Menurut teori DLVO, efektivitas ikatan antara partikel koloid dan permukaan mineral sangat ditentukan oleh tingkatan ionik larutan (Ryan and Elimelech, 1995). Pada tingkatan ionik yang tinggi, *electric double layers* akan mengerucut sehingga energi potensial yang menghalangi interaksi akan mengecil, kondisi ini memungkinkan partikel-partikel bergerak saling mendekat tanpa mengalami gaya tolak yang berarti. Sebaliknya pada tingkatan yang rendah, energi potensial yang menghalangi interaksi akan membesar. Akibatnya ikatan yang kuat akan sangat sulit terjadi (Loveland dkk., 1996). Eksperimen yang menggunakan larutan dengan tingkatan ionik sepuluh kali lebih rendah, 0,0015 M, tidak ada tanda-tanda adanya pengurangan efisiensi ikatan antara *E. coli* dengan kolektor. Kurva *breakthrough* yang didapatkan kurang lebih sama dengan hasil eksperimen pada tingkatan ionik yang lebih tinggi (Gambar 5). Indikator serupa ditunjukkan pada *detachment test*, yang menggunakan tiga macam larutan, *sodium nitrate*, *aquabidest* dan *aquabidest + KOH*, dengan tingkatan ionik yang berbeda (diukur sebagai konduktivitas, masing-masing 1700 $\mu\text{S}/\text{cm}$, 6 $\mu\text{S}/\text{cm}$ dan 450 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Laju lepasnya *E. coli* dari kolektor diharapkan cukup signifikan ketika media diregenerasi dengan larutan yang lebih rendah tingkatan ioniknya, khususnya *aquabidest*, tetapi hal ini tidak terjadi (Gambar 3).

Efek fosfat pada mekanisme sorpsi *E. coli*

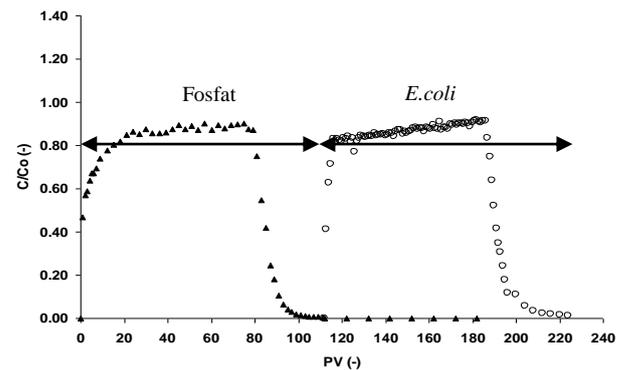
Fosfat dikenal sebagai ligan inorganik. Mekanisme ikatan fosfat berlangsung berdasarkan prinsip pertukaran ligan, berlangsung cepat pada tahap awal, kemudian berangsur-angsur melambat.



Gambar 5. Kurva *Breakthrough* *E. coli* pada Tiga Perlakuan yang Berbeda

Walaupun indikasi keterlibatan reaksi kimia dalam proses sorpsi *E. coli* pada *goethite* dapat diketahui

melalui serangkaian eksperimen yang telah dilakukan, interaksi kimiawi bukanlah satu-satunya ikatan yang terbentuk juga sangat kuat sehingga proses desorpsi sukar sekali terjadi (Cornell dan Schwertmann, 1991). Gambar 4 dengan jelas menunjukkan ikatan *E. coli* pada *goethite* menjadi tidak efektif, setelah media dialiri fosfat terlebih dahulu. Setelah 3 PV, kurva *breakthrough* telah mencapai fase jenuh, efisiensi ikatan hanya berkisar antara 10-15%. Slope yang sangat curam pada awal proses mengindikasikan kualitas interaksi yang lemah. Penjelasan yang paling mungkin dari hasil ini adalah bahwa antara fosfat dan *E. coli* melekat pada sisi aktif yang sama dari media kolektor, sehingga begitu sisi aktif ini sudah "habis" karena diikat oleh fosfat maka *E. coli* tidak mampu melekat secara efektif. Konsentrasi fosfat pada efluen selama proses sorpsi *E. coli* berlangsung berada dibawah batas deteksi alat ukur, atau dengan kata lain dapat diabaikan. Hal ini memberikan indikasi yang lain, yaitu bahwa mekanisme ikatan yang terbentuk antara *E. coli* dengan *goethite* serupa dengan ikatan fosfat pada media yang sama, yaitu pertukaran ligan.



Gambar 4. Kurva *Breakthrough* *E. Coli* dalam Kondisi Berkompetisi dengan Fosfat

melalui serangkaian eksperimen yang telah dilakukan, interaksi kimiawi bukanlah satu-satunya

mekanisme. Hal ini nampak dari semua kurva *breakthrough* yang didapatkan, konsentrasi efluen relatif terhadap konsentrasi awal (C/C_0) tidak pernah mencapai 1 (rata-rata 0,8), artinya masih ada sekitar 20% mekanisme ikatan yang belum dapat dijelaskan (Gambar 5).

4. KESIMPULAN

Reaksi kimia, dalam hal ini pertukaran ligan, merupakan salah satu mekanisme yang terlibat dalam proses sorpsi *E. coli* pada media *goethite*. Kesimpulan ini didukung oleh serangkaian pengamatan yang menunjukkan: (1) adanya kenaikan pH selama proses sorpsi berlangsung (teramati lebih jelas pada variasi C_0 tinggi); (2) rendahnya tingkat desorpsi; (3) tidak adanya efek signifikan dari tingkatan ionik dan pH larutan pada proses desorpsi, dan (4) adanya penurunan efektivitas sorpsi saat dikompetisikan dengan fosfat.

Hasil observasi ini mengindikasikan bahwa proses sorpsi bakteri ke permukaan bermuatan dapat diterangkan lebih dari sebatas teori klasik koloidal (DLVO).

Hal-hal berikut ini dapat ditindaklanjuti untuk mendapatkan pengertian yang lebih mendalam tentang transport kontaminan patogen: (1) identifikasi keterlibatan proses fisika khususnya efek *straining*, mengingat pertukaran ligan bukanlah satu-satunya mekanisme yang terlibat dalam proses transport bakteri; (2) uji inaktivasi bakteri dengan suasana yang mewakili kondisi di lapangan; (3) uji kompetisi proses sorpsi bakteri dengan senyawa organik yang juga sering dijumpai di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

Chen G. and Zhu H. (2004) **Bacterial Deposition in Porous Medium as Impacted by Solution Chemistry**. Research in Microbiology 155: 467-474.

Chu, Y., Jin, Y., Flury, M., and Yates M. V. (2001). **Mechanism of virus removal during transport in unsaturated porous media**. Water Resources Research 37 (2): 253-263.

Cornell dan Schwertmann. (1992) **The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses**. VCH Weinheim, Germany.

Cunningham W. P., Cunningham M. A., Saigo B. W. (2005) **Environmental Science: A Global Concern**. McGraw-Hill, New York, USA.

Foppen, J.W.A. and Schijven, J. F. (2005) **Transport of *E. coli* in Columns of Geochemically Heterogenous Sediment**. Water Research 39: 3082-3088.

Foppen J. W. A. dan Schijven J. F. (2006). **Review: Evaluation Of Data From The Literature On The Transport And Survival Of *Escherichia Coli* And Thermotolerant Coliforms In Aquifers Under Saturated Conditions**. Water Research 40: 401-426.

Loveland J. P., Ryan J. N., Amy G. L., dan Harvey R. W. (1996). **The Reversibility of Virus Attachment to Mineral Surfaces**. Colloids and Surfaces; Physicochemical and Engineering Aspects 107: 205-221.

Lukasik, J., Cheng Y. F., Lu F. H., Tamplin, M., dan Farrah S. R. (1998). **Removal of Microorganism from Water by Columns Containing Sand Coated with Ferric and Aluminium Hydroxydes**. Water Research 33 (3): 769-777.

Ryan, J. R. dan Elimelech, M. (1995). **Review: Colloids Mobilization and Transport in Groundwater**. Colloids and Surfaces; Physicochemical and Engineering Aspects 107: 1-56.

Walker Sharon L., Jeremy A. Redman, dan Menachem Elimelech. (2004). **Role of Cell Surface Lipopolysaccharides in *Escherichia coli* K12 Adhesion and Transport**. Langmuir 20: 7736-7746.

World Health Organization. (2000-2003). **Global Water Supply and Sanitation Assessment 2000 Report**. http://www.who.int/docstore/water_sanitation_health/globalassessment.