

ANALISIS MIKROBIOLOGI *Escherichia coli* JAJANAN MINUMAN DI SEKITAR JALAN KAPTEN MUSLIM KOTA MEDAN

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF *Escherichia coli* IN SNACKS AND DRINKS AROUND JALAN KAPTEN MUSLIM, MEDAN CITY

^{1*}Siti Maimunah, ²Artha Yuliana Sianipar, ²Cut Masyithah Thaib

¹Program Studi D3 ANAFARMA, Universitas Sari Mutiara Indonesia

²Program Studi S1 Farmasi, Universitas Sari Mutiara Indonesia

Korespondensi penulis: Universitas Sari Mutiara Indonesia

Alamat email: sitimaimunahgirlish09@gmail.com

Abstrak. *Escherichiacoli* merupakan bakteri batang gram negatif, tidak berkapsul dan merupakan flora normal di dalam saluran pencernaan hewan dan manusia yang mudah mencemari air. *Escherichia coli* dapat berubah menjadi oportunist pathogen bila hidup di luar usus, misalnya pada infeksi saluran kemih, infeksi luka dan mastitis. Minuman yang terkontaminasi mikroorganism dapat menyebabkan gangguan kesehatan berupa gangguan pada saluran pencernaan dengan gejala mual, perut mulas, muntah dan diare. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui adanya kontaminasi bakteri *Escherichia coli* pada jajanan minuman yang dijual disekitar jalan kapten muslim. Penelitian deskriptif ini menggunakan 4 sampel minuman es yaitu es kelapa muda, es tebu, es campur dan es dawet. Teknik pengujian sampel menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN). Media yang digunakan pada penelitian ini ialah *lactose Broth*, *Brilliant Green Lactose Bile Broth*, *Eosin Methylene Blue Agar*. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Sari Mutiara Indonesia, setelah dilakukan penelitian hasil menunjukkan 1 dari 4 sampel jajanan minuman yang terdapat di jalan kapten muslim terdeteksi bakteri *Escherichia coli* yang berkisar sebanyak 2.800 sel/100 ml sehingga termasuk dalam kriteria kurang baik, dalam kategori ini jajanan minuman tersebut tidak layak untuk dikonsumsi dan tidak memenuhi kriteria yang ditetapkan dalam Kemenkes RI No.492/Menkes/Per/IV/2010 (*Coliform* dan *Escherichia coli* 0/100 ml).

KataKunci: *Escherichiacoli*, Jajanan Minuman, MPN

Abstract. *Escherichia coli* is a gram-negative rod bacteria, not encapsulated and is a normal flora in the digestive tract of animals and humans that easily pollutes water. *Escherichia coli* can turn into an opportunist pathogen if it lives outside the intestine, for example in urinary tract infections, wound infections and mastitis. Drinks contaminated with microorganisms can cause health problems in the form of disturbances in the digestive tract with symptoms of nausea, heartburn, vomiting and diarrhea. The purpose of this study was to determine the presence of *Escherichia coli* bacterial contamination in snacks sold around the Kaptan Muslim street. This descriptive study used 4 samples of iced drinks, namely young coconut ice, sugar cane ice, mixed ice and dawet ice. The sample testing technique uses the *Most Probable Number* (MPN) method. The media used in this study were *lactose Broth*, *Brilliant Green Lactose Bile Broth*, *Eosin Methylene Blue Agar*. This research was conducted at the Pharmacy Microbiology Laboratory, Sari Mutiara University, Indonesia. After the research, the results showed that 1 of 4 samples of snacks found on Jalan Captain Muslim was detected with *Escherichia coli* bacteria ranging from 2,800 cells/100 ml so that it was included in the poor criteria, in the category These snacks are not suitable for consumption and do not meet the criteria set out in the Indonesian Ministry of Health No.492/Menkes/Per/IV/2010 (*Coliform* and *Escherichia coli* 0/100 ml).

Keywords: *Escherichia coli*, Snacks and Drinks, MPN

PENDAHULUAN

Makanan dan minuman sangat penting bagi manusia karena merupakan salah satu kebutuhan pokok untuk kelangsungan hidupnya dan di dalam makanan dan minuman tersebut terkandung senyawa-senyawa yang diperlukan untuk memulihkan dan memperbaiki jaringan tubuh yang rusak, mengatur proses didalam tubuh, perkembangbiakan dan menghasilkan energi untuk berbagai kepentingan dalam kehidupannya [1]. Dalam kegiatan proses produksi makanan dan minuman tindakan hygiene sanitasi yang merupakan bagian dari kesehatan lingkungan juga analisis bahaya dan titik pengendalian kritis (*HACCP: Hazard Analysis Critical Control Point*) merupakan salah satu upaya

untuk menghindari pencemaran terhadap proses produksi, yang dalam proses pengolahannya terdapat enam(6) prinsip igiene dan sanitasi yang harus diperhatikan, yaitu pemilihan makanan, penyimpanan bahan makanan, pengolahan makanan, penyimpanan makanan masak, pengangkutan makanan dan penyajian makanan[2]. Berdasarkan hasil penelitian Kristofel [3], menemukan bahwa es campur yang dijual pedagang kaki lima di Pasar Minggu Kelurahan Belakang Pondok Kecamatan Gading Cempaka Bengkulu, diketahui bahwa kandungan *Escherichia coli* dalam es campur tidak memenuhi persyaratan kualitas bakteriologis, sebab hasil dari pemeriksaan laboratorium 9 dari 10 sampeles campur yang diteliti tercemar oleh *Escherichiacoli* sebanyak 4 sampai 7 sampel/100 ml sampel dan 1 sampel tidak tercemar *Escherichiacoli*. *Escherichiacoli* merupakan bakteri batang gram negatif, tidak berkapsul dan merupakan flora normal di dalam saluran pencernaan hewan dan manusia yang mudah mencemari air. Bakteri *Escherichiacoli* dapat berubah menjadi oportunistik patogen bila hidup diluar usus, misalnya pada infeksi saluran kemih, infeksi luka dan mastitis[1]. Minuman yang terkontaminasi mikroorganism dapat menyebabkan gangguan kesehatan berupa gangguan pada saluran pencernaan dengan gejala mual, perut mulas, muntah dan diare. Penyakit bawaan makanan merupakan salah satu permasalahan kesehatan yang paling banyak ditemui dimasyarakat. Penyakit tersebut menimbulkan banyak korban, khususnya di kalangan mereka yang kekebalan tubuhnya terganggu, lansia, bayi dan anak [4].

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pisau, mortal, neraca analitik, gelas arloji, spatula, pengaduk gelas, labu takar 100 ml, labu takar 50 ml, pipet volume 10 ml, pipet ukur 25 ml, corong gelas, gelas ukur 25 ml, gelas ukur 50 ml, botol semprot, bola hisap, pipet tetes, labu alas bulat 250 ml, hotplate, beakerglass 100 ml, beakerglass 250 ml, lemari asam, dan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA).

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah larutan asam nitrat (HNO_3) pekat, larutan asam sulfat (H_2SO_4) pekat, hydrogen peroksida (H_2O_2) 30%, larutan standar merkuri (Hg) dan aquades.

Prosedur Penelitian

1. Pengenceran Sampel

Pengenceran sampel dilakukan dengan mengambil sampel minuman sebanyak 1 ml, kedalam tabung reaksi yang berisi larutan 9ml aquades untuk pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya ambil 1ml sampel dari tabung pengenceran 10^{-1} lalu masukkan kedalam tabung reaksi berisi larutan 9ml aquades kemudian menghomogenkan dengan menggunakan vortex untuk pengenceran 10^{-2} . Dan ambil kembali sebanyak 1ml dari tabung pengenceran 10^{-2} lalu masukkan kedalam tabung reaksi berisi larutan 9ml aquades untuk pengenceran 10^{-3} . Masing-masing dari setiap pengenceran dipindahkan 1ml kedalam tabung reaksi yang berisi tabung durham. Pengenceran dilakukan secara aseptik didalam LAF (*Laminary Air Flow*). Tujuan dilakukan pengenceran sampel untuk mengurangi jumlah kandungan mikroba dalam sampel sehingga nantinya dapat diamati dan diketahui jumlah mikroorganism secara spesifik sehingga didapatkan perhitungan yang tepat, pengenceran memudahkan dalam perhitungan koloni.

2. Uji Pendugaan (*Presumptive Test*)

Uji pendugaan dilakukan dengan menggunakan 3 serial tabung. Diambil sebanyak 1ml larutan sampel masing-masing dari pengenceran dan dimasukkan kedalam tabung yang berisi medium *Lactosebroth* sebanyak 9ml dan tabung durham. Selanjutnya inkubasi selama 24jam dengan suhu $37^\circ\text{C} \pm 0,5$. Apabila selama 24jam tidak terjadi perubahan pada medium dan tidak ada gas yang timbul maka inkubasi dilanjutkan 48jam. Jika dalam waktu 48 jam tidak terbentuk gas dalam tabung durham maka dihitung hasil negatif. Sedangkan tabung positif menunjukkan adanya

gelembung gas pada tabung durham dan terjadi warna kuning kekeruhan.

3. Uji Penegasan (*Confirmed Test*)

Uji penegasan dilakukan dengan mengambil 1ml dari masing-masing kultur yang menunjukkan hasil positif kemudian diinokulasi kedalam media baru, yaitu media *Briliant Green Lactose BileBroth*. Sebelum dilakukan inokulasi biakan, semua tabung yang berisi BGLBB diberikan tabung durham terlebih dahulu untuk mengetahui adanya gas yang dihasilkan oleh 1 bakteri yang ada dalam sampel minuman. Selanjutnya inkubasi dengan suhu $\pm 36-37^{\circ}\text{C}$ selama 24jam. Hasil positif menunjukkan ada perubahan warna hijau kekeruhan pada tabung dan terdapat gelembung gas pada tabung durham.

4. Uji Pelengkap(*Completed Test*)

Uji pelengkap dilakukan dengan mengambil tabung yang menunjukkan reaksi positif(Timbul gas pada tabung durham) kemudian menginokulasi biakan ke media *Eosinmethylene Blue Agar* (EMBA) dengan mengambil 1 ose dari masing-masing kultur yang positif kemudian digoreskan secara perlahan-lahan kemedial EMBA. Setelah itu inkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C . Bila hasil goresan berwarna hijau metalik, berinti dan mengkilap seperti logam maka sampel uji positif mengandung bakteri *Escherichia coli*.

Hasil dan Pembahasan

Analisis mikrobiologi bakteri *colifrom* memberikan hasil positif. Keberadaan bakteri *colifrom* pada sampel yang ditandai dengan terbentuknya gas didalam tabung durham dan perubahan warna media *Lactose Broth* dan *Brilliant Green Lactosa Bile Broth* menjadi keruh dan terbentuk gas didalam tabung durham. Hal ini disebabkan oleh fermentasi laktosa yang dilakukan bakteri golongan *colifrom* (Widiyanti dan Ristianti,2004). Berdasarkan hasil analisis mikrobiologi yang telah dilakukan terhadap masing-masing sampel jajanan minuman yang diperoleh dari pedagang disekitar jalan kapten muslim kota medan didapatkan hasil pada **Tabel 1**.

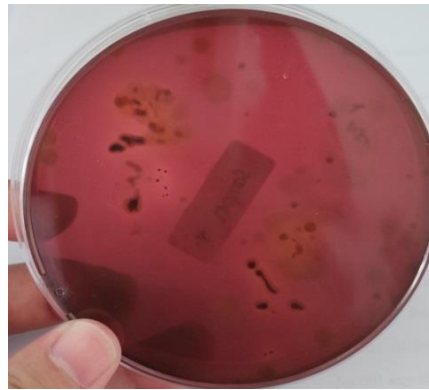
Tabel1. Hasil Pengamatan Uji Penegasan Bakteri pada Media BGLB

Sampel	SeriTabung								
	10^{-1}			10^{-2}			10^{-3}		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
A	+	-	+	+	-	+	-	+	-
B	-	+	-	-	-	+	-	+	-
C	+	-	-	-	+	-	-	+	-
D	+	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: (+)Positif:Terdapat *colifrom*

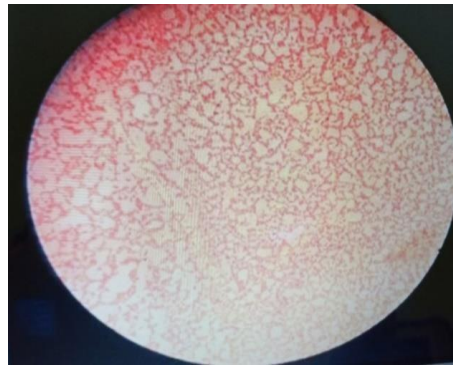
(-)Negatif:Tidak terdapat *colifrom*

Dari hasil pengamatan uji penegasan menunjukkan bahwa masing-masing sampel jajanan minuman umumnya terdeteksi bakteri *colifrom*, hanya beberapa sampel yang tidak terdeteksi bakteri. Selanjutnya dilakukan uji pelengkap pada tabung yang ditemukan gelembung gas dengan menggunakan media *Eosin Methylen Blue Agar*(Emba). Pada uji pelengkap yang telah dilakukan pada sampel jajanan minuman menunjukkan adanya bakteri *Escherichia coli*. Bakteri ini diamati dengan jelas berwarna kehijauan dan kilat logam pada media EMBA.



Gambar 1. Bakteri *Escherichia coli* pada media EMBA

Pada penelitian ini bakteri yang telah tumbuh pada media emba dapat dilakukan identifikasi dengan menggunakan pewarnaan gram untuk mengetahui morfologi dari bakteri tersebut dengan hasil sebagai berikut.



Gambar 2. Hasil Pewarnaan Gram Kultur Bakteri *Escherichiacoli*

Berdasarkan hasil pewarnaan gram yang diamati dengan mikroskop dan pembesaran 100x morfologi bakteri dengan bentuk batang pendek, berwarna merah dan bersifat gram negatif yang diduga bakteri *Escherichia coli*. Hal ini disebabkan karena *Escherichiacol* memiliki komposisi dinding sel mengandung lipopoli sakarida yang lebih banyak dibandingkan bakteri kelompok Gram positif sehingga bakteri tersebut tidak mempertahankan zat kristal violet, namun saat diwarnai dengan safranin bakteri tersebut akan mempertahankan warna safranin menjadi warna pink [5]. Setelah melakukan pewarnaan Gram selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri dengan uji biokimia dan gula-gula.

Uji Methyl Red

Hasil uji *methylred* menunjukkan bahwa media berubah menjadi merah ketika diteteskan reagen metil merah yang menunjukkan uji positif bakteri *Escherichiacoli*. Uji *methylred* dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri mengoksidasi glukosa dengan memproduksi asam dengan konsentrasi tinggi sebagai hasil akhirnya dan hasil asam yang terbentuk berubah menjadi merah dengan adanya reagen metil merah yang terlihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Hasil Uji Methyle Red Berubah Menjadi Berwarna Merah

Uji Voges Proskauer

Hasil uji *Voges Proskauer* menunjukkan hasil negative atau tidak terjadi perubahan pada media yang terlihat pada **Gambar 4**. Uji Voges Proskauer adalah uji untuk mendeteksi asetoin dalam kultur bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan alpha-naftol dan kalium hidroksida pada media Voges Proskauer yang telah diinokulasikan bakteri. Hasil positif akan menghasilkan warna merah, sedangkan warna kuning-coklat menunjukkan hasil negative (Hemraj,2013). Pada *Escherichiacoli* hasil uji seharusnya bersifat negative dan penelitian yang dikerjakan menunjukkan hasil yang sesuai sehingga menunjukkan bahwa sampel mengandung bakteri *Escherichia coli*.



Gambar 4. Hasil Positif Uji VP Berwarna Merah

Uji Simmons Citrate Agar

Uji Simmons Citrate akan menunjukkan hasil positif bila media berubah menjadi warna biru dan negatif bila media tetap berwarna hijau, pada bakteri *Escherichiacoli* media akan tetap menghasilkan berwarna hijau karena *Escherichiacoli* dapat tumbuh atau tidak dengan menggunakan sitrat dalam media sebagai sumber karbon.



Gambar 5. Hasil Uji Simmons Citrate

Jumlah Mikroba Berdasarkan Nilai MPN

Metode *Most Probable Number*(MPN), merupakan metode perhitungan sel terutama untuk perhitungan bakteri *coliform* berdasarkan jumlah perkiraan terdekat. Perkiraan terdekat yaitu perhitungan dalam *range* tertentu. Dihitung sebagai nilai duga dekat secara static dengan merujuk pada tabel MPN (*Most Probable Number*)[1]. Jumlah mikroorganisme yang diuji berdasarkan nilai MPN dapat dilihat pada **Tabel 2**. Hasil yang diperoleh dari pengujian menunjukkan bahwa semua sampel positif membentuk gelembung/gas, yang diduga telah terjadi kontaminasi oleh bakteri *coliform*.

Tabel 2. Hasil Pengujian dengan Metode *Most Probable Number*

Sampel	Nomor Tabung yang Positif			Indeks MPN Per100 ml
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
A	2	2	1	2.800
B	1	1	1	1.100
C	1	1	1	1.100
D	1	0	0	400

Nilai MPN yang diperoleh dari hasil pengujian menunjukkan jumlah bakteri *coliform* pada sampel A

sebesar 28, sampel B dan sampel C sebesar 11 dan sampel D sebesar 4 per 100ml (Tabel 2). Kusuma[6] menjelaskan proses fermentasi gula (laktosa) dalam media LB (*Lactose Broth*) karena adanya bakteri *coliform* fekal (*Escherichiacoli*). Fermentasi gula dengan adanya energi yang dihasilkan oleh bakteri akan menghasilkan asam piruvat dan asam asetat, kemudian muncul gelembung gas CO₂ yang berada dalam media. Tabung reaksi yang tertutup rapat, menyebabkan gas karbon akan mendorong ruang pada tabung Durham. Jika dalam waktu lebih dari 24 jam maka akan semakin banyak ruang gas yang akan terbentuk pada tabung Durham pada reaksi yang positif. Reaksi negative tidak menunjukkan adanya keberadaan bakteri ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung gas pada tabung Durham. Terbentuknya gelembung/gas dan perubahan warna menunjukkan terjadinya fermentasi laktosa yang ada pada jajanan minuman tersebut. Menurut penelitian Wandrivel[7] produksi gas pada tabung reaksi menunjukkan adanya pertumbuhan koloni bakteri *coliform* pada medium yang digunakan sehingga dapat dimasukkan ke dalam tabel perkiraan untuk mendapatkan total bakteri *coliform* yang terkandung dalam 100 ml sampel air. Hasil dari jumlah tabung yang positif dibandingkan dengan tabel MPN (*Most Probable Number*). Hasil perhitungan jumlah *coliform* menggunakan tabel MPN (*Most Probable Number*) dapat menentukan kualitas suatu produk. Resiko cemaran mikroba pada produk minuman es juga ditemukan pada penelitian sejenis lain, misalnya penelitian oleh Trisuci (2013) di Medan, yang menemukan bahwa dari 15 sampel es krim tradisional yang diteliti, 11 sampel aman dikonsumsi dan 4 sampel tidak aman dikonsumsi oleh bakteri *Klebsiella oxytoca* dan *Klebsiella pneumoniae*. Hasil penelitian yang dilakukan terhadap 4 sampel jajanan minuman yang terdapat di sekitar jalan Kapten Muslim bahwa kandungan bakteri *Escherichiacoli* tidak memenuhi syarat yang telah ditentukan. Menurut Kepmenkes RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010 tentang persyaratan kualitas air minum, menyebutkan bahwa jumlah bakteri *coliform* dan bakteri *Escherichia coli* dalam air minum adalah 0/100ml. Sehingga dapat dikatakan bahwa minuman yang diambil sebagai sampel tidak memenuhi syarat untuk dikonsumsi. Jumlah bakteri *Escherichiacoli* dalam sampel jajanan minuman yang diujikan sangatlah beragam nilainya, mulai dari yang terendah dijumpai pada sampel D hingga yang tertinggi dijumpai pada sampel A. Sampel minuman di beberapa tempat di sekitar jalan Kapten Muslim rata-rata positif mengandung bakteri *coliform* dan *fecal coli*. Hal ini mengindikasikan bahwa minuman tersebut tidak layak untuk dikonsumsi. Widiyanti[8] menyatakan bahwa indikator pencemaran air minum adalah bakteri *coliform* dan *fecal coli* (*Escherichiacoli*), karakteristik bakteri *coliform* adalah aerobik dan anaerobik fakultatif serta mampu memfermentasikan laktosa yang menghasilkan asam dan gas pada suhu 35°C. Kandungan bakteri *coliform* yang melebihi batas maksimum pada air minum menunjukkan ada mikroorganisme yang bersifat *Enteropatogenik* atau *Toksigenik* yang berbahaya bagi kesehatan manusia [9]. *Escherichiacoli* merupakan salah satu *fecal coli* yang dapat menyebabkan *Urinetractions* (UTIs). Bakteri ini mampu menginfeksi *gastrointestinal tract* manusia dan menghasilkan eksotoksin sehingga penderita dapat terinfeksi diare [10]. Air minum yang telah terkontaminasi *coliform* dan *fecal coli* menunjukkan bahwa pengolahan air minum yang belum optimal dapat menyebabkan bakteri tersebut masih bertahan hidup sehingga air tersebut tidak memenuhi persyaratan sebagai air minum [11]. Faktor yang menyebabkan kontaminasi bakteri *coliform* dan *fecal coli* pada minuman adalah fasilitas sanitasi lingkungan di sekitar tempat makan tersebut dan personal hygiene dari pedagang maupun pengolah minuman. Jumlah bakteri *coliform* pada air minum sangat dipengaruhi oleh perilaku kurang mencuci tangan [12]. Departemen Kesehatan RI [13] mengharuskan setiap pengolah minuman untuk mencuci tangan sebelum bekerja dan setelah membuang air besar/kecil. Kebiasaan mencuci tangan dengan menggunakan sabun efektif mengurangi prevalensi diare yang terjadi pada masyarakat [14,15].

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian di atas, maka dapat disimpulkan bahwa 4 sampel yang dibeli di jalan Kapten Muslim terkontaminasi bakteri *Escherichiacoli*. Jumlah bakteri *Escherichiacoli* pada jajanan minuman tersebut melebihi batas yang telah ditentukan. Hasil nilai MPN pada sampel A sebesar 2.800mpn/gr/ml, sampel B dan sampel C sebesar 1.100mpn/gr/ml, sampel D sebesar 400mpn/gr/ml.

Maka kesimpulan dari penelitian ini ditemukan jumlah tertinggi pada jajanan minuman yang terdapat disekitar jalan kapten muslim kota medan pada sampel A sebesar 2.800mpn/gr/ml, menunjukkan sampel jajanan yang diujikan kurang baik untuk diminum menurut Kemenkes RI No.492/Menkes/Per/IV/2010(*Coliform* dan *Escherichia coli* 0/100ml).

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Supardi, I & Sukanto, 1999, Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan, Penerbit Alumni, Bandung.
- [2] Depkes RI. 2004, Hygiene Sanitasi Makanan dan Minuman, Dirjen PMM dan PLP, Jakarta.
- [3] Kristofel, S, 2008, Pengolahan dan Kandungan Bakteri *Escherichia coli* Pada Es Campur, Skripsi FKM USU, Medan.
- [4] Aprilia. BA. 2011. Faktor yang Berhubungan dengan Pemilihan Makanan Jajanan pada Anak Sekolah Dasar. Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro: Semarang.
- [5] Hidayat, N., Masiana dan Suhartini. 2006. Mikrobiologi Industri. Yogyakarta: ANDI.
- [6] Kusuma, S.A.F. (2009). Uji biokimia bakteri. (Karya ilmiah). Bandung: Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran.
- [7] Wandrivel, R., Suharti, N., & Lestari, Y. (2012). Kualitas air minum yang diproduksi depot air minum isi ulang di Kecamatan Bungus Padang berdasarkan persyaratan mikrobiologi. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 1(3), 129–133.
- [8] Widiyanti, Ni Luh Putu Manik Dan Ni Putu Ristiati. 2004. Analisis Kualitatif Bakteri Koliform Pada Depo Air Minum Isi Ulang di Kota Singaraja Bali. *Jurnal Ekologi Kesehatan* Vol 3 No 1, April 2004: 64 – 73
- [9] Mirza, M. N. 2014. Hygiene Sanitasi dan Jumlah *Coliform* Air Minum. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*. 9 (2) : 167-173.
- [10] Toy., Debord., Wanger., Castro., Kettering., Briscoe. 2008. *Case Files Microbiology*. United Stated: Mc-Graw- Hill Companies.
- [11] Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2010. Persyaratan Kualitas Air Minum Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010. Kesehatan Republik Indonesia.
- [12] Melliawati, R. 2009. *Escherichia coli* dalam Kehidupan Manusia. *Bio Trends* Vol. 4 No. 1:10-14.
- [13] Dinas Kesehatan Republik Indonesia. 2006. Kumpulan modul kursus Hygiene Sanitasi Makanan dan Minuman. Jakarta: Departemen Kesehatan.
- [14] Luby, S.p, et, al. 2001. Microbiologic effectiveness of hand washing with soap in an urban squatter settlement, Karachi, Pakistan. *Epidemiol Infect.* 127:237-244.
- [15] Mohamed H, Brown J, Mussa R, Clasen T, Malebo HM and Mbuligwe S. 2015. Point-of- use chlorination of turbid water. Results from a field study in Tanzania. *Journal of Water & Healt.* 13 (2): 544