



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar Unand.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin Unand.

KONDISI BAKTERIOLOGIS LIMUN YANG DI PASARKAN DI KOTA PADANG

SKRIPSI



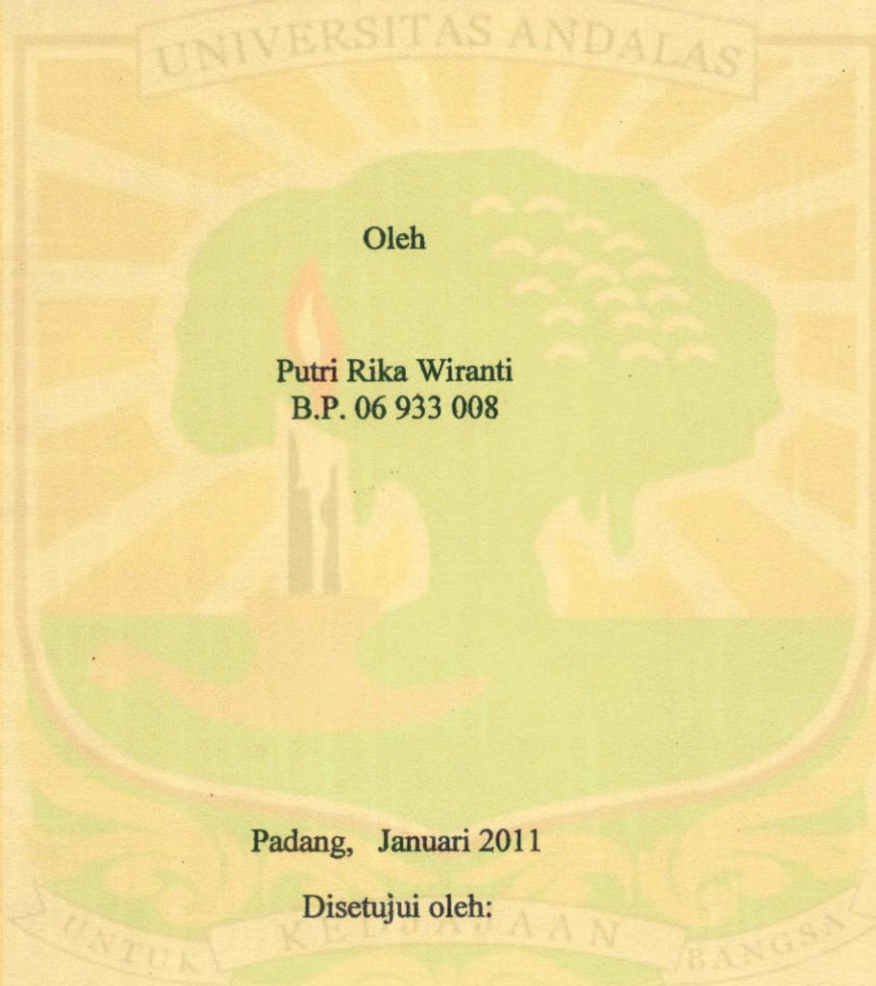
**PUTRI RIKA WIRANTI
06933008**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU
PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS
ANDALAS PADANG, 2011**

Kondisi Bakteriologis Limun Yang Di Pasarkan Di Kota Padang

Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat

Untuk memperoleh gelar Sarjana Sains bidang studi Biologi



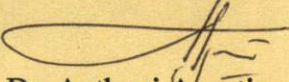
Oleh

**Putri Rika Wiranti
B.P. 06 933 008**

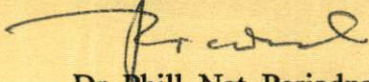
Padang, Januari 2011

Disetujui oleh:

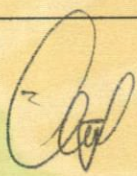
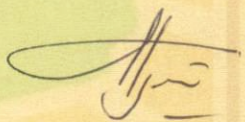
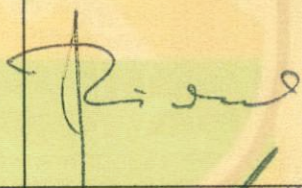
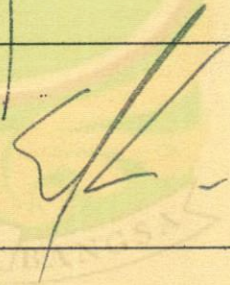
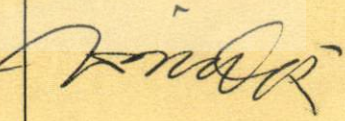
Pembimbing I


Dr. Anthoni Agustien, MS
(NIP. 19620812198811101)

Pembimbing II


Dr. Phill. Nat. Periadnadi
(NIP. 195907251986031017)

**Skripsi ini telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Sarjana Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang
Pada hari Selasa tanggal 01 Februari 2011.**

No.	Nama	Jabatan	Tanda Tangan
1.	Dr. Phill. Nat. Nurmiati	Ketua	
2.	Dr. Anthoni Agustien, M.S	Sekretaris	
3.	Dr. Phill. Nat. Periadnadi	Anggota	
4.	Dr. Syaifullah	Anggota	
5.	Dr. Nasril Nasir	Anggota	

KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji dan syukur kehadirat Allah S.W.T. atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini. Shalawat dan salam kepada junjungan Nabi Muhammad SAW sebagai Rasul dan Pemimpin semua umat manusia.

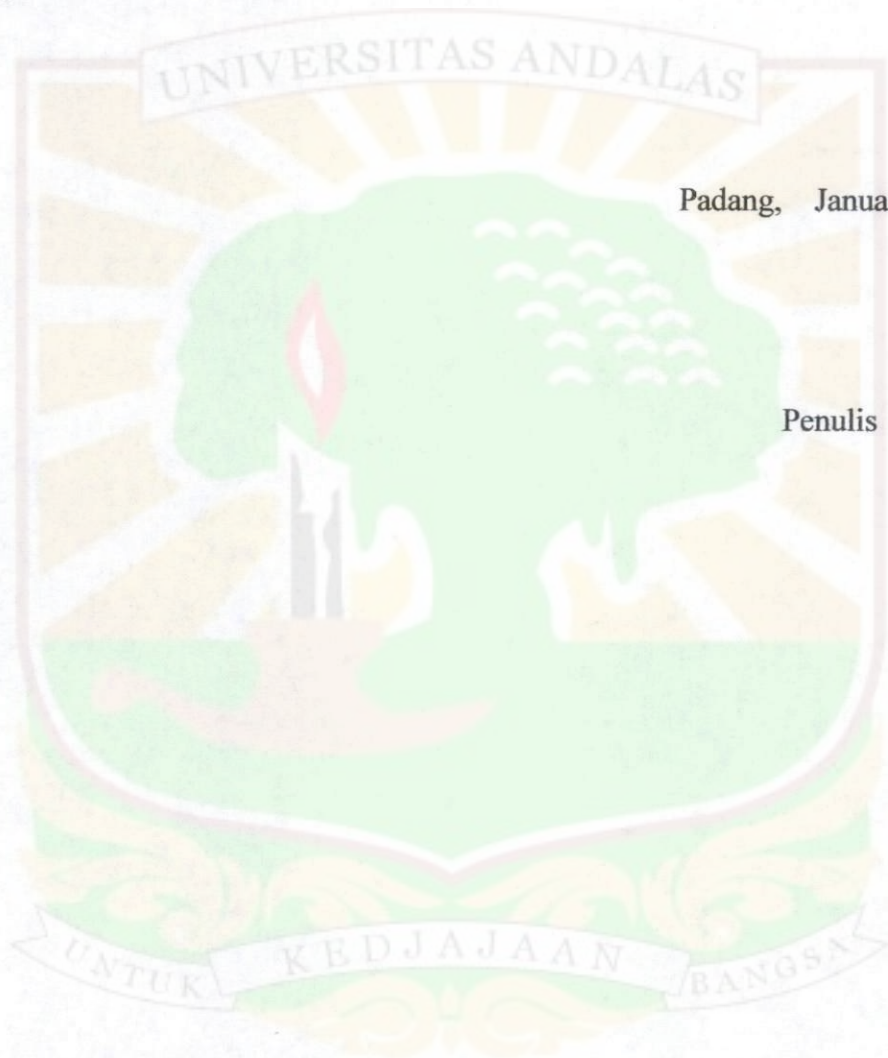
Skripsi ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dalam mata ajaran Mikrobiologi dengan judul **“Kondisi Bakteriologis Limun Yang Di Pasarkan Di Kota Padang”**. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan studi tingkat sarjana pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.

Penyelesaian skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak, baik moril maupun materil. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. Anthoni Agustien, MS selaku dosen pembimbing I dan Bapak Dr. Phill. Nat. Periadnadi selaku dosen pembimbing II, atas segala petunjuk, arahan dan bimbingan yang diberikan selama penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih juga penulis ucapkan kepada :

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Andalas, Padang.
2. Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Padang.
3. Ibu Dra. Rachmawati, MS selaku Penasehat Akademik.
4. Seluruh Staf, Dosen serta Karyawan dan Karyawati di Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas, Padang.

5. Serta semua pihak yang telah berjasa dan membantu dalam penelitian maupun penulisan skripsi ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan umumnya dan memperkaya khasanah ilmu Biologi khususnya.



Padang, Januari 2011

Penulis

ABSTRAK

Penelitian mengenai “Kondisi Bakteriologis Limun Yang Di Pasarkan Di Kota Padang” telah dilakukan pada bulan Oktober 2010 hingga November 2010 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Andalas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kualitas limun yang dipasarkan di kota Padang, dengan menggunakan metode deskriptif dengan pengambilan sampel secara purposive sampling terhadap 3 pabrik limun yang berada di kota Padang. Selanjutnya dilakukan pengujian bakteriologis menggunakan metoda Most Probable Number (MPN) dengan kombinasi 5:1:1. Hasil penelitian ini didapatkan indeks MPN Koliform dan *Escherichia coli* pada ketiga pabrik adalah antara 2,2-240. Kualitas dari ketiga pabrik tersebut tidak layak untuk dikonsumsi.



ABSTRACT

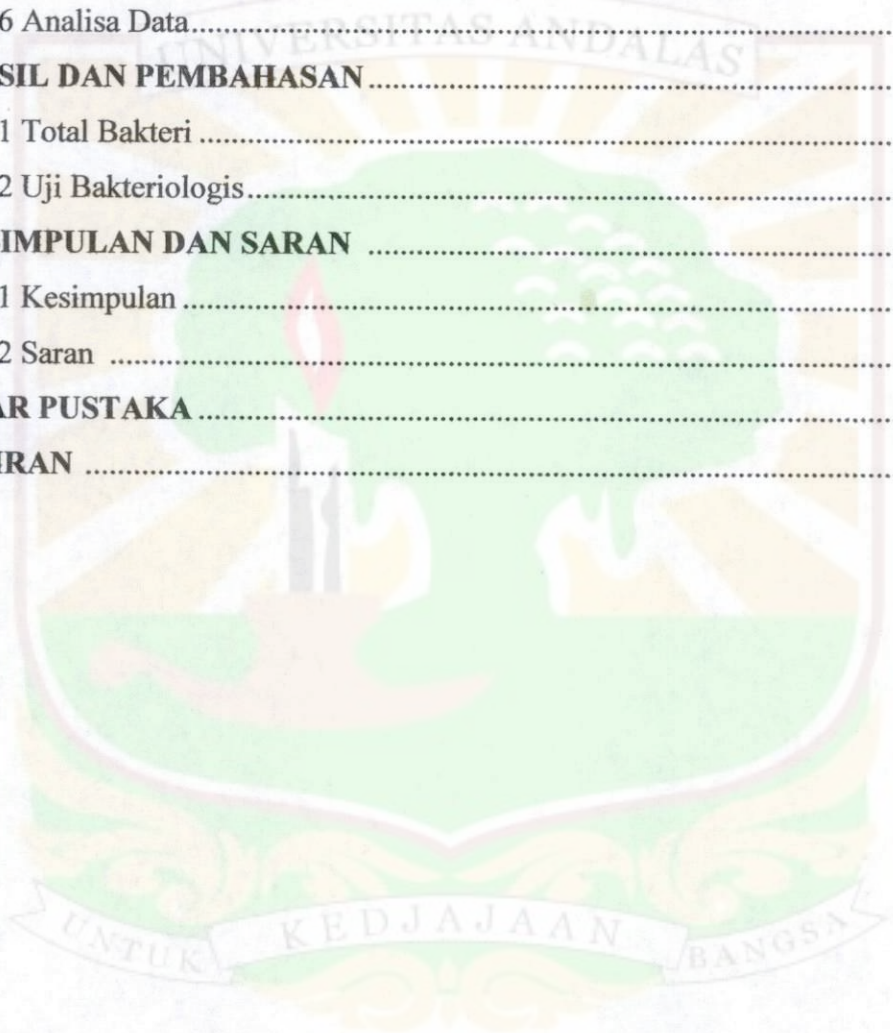
This research analyze about condition the lemonade's bacteriologies that sold in Padang. It has been done on October until November 2010 at Laboratory of Microbiology in Biology Major, Andalas University. This research is to decide the quality of lemonade that sell in Padang, with using descriptive method with take sample by purposive sampling based on 3 of lemonade factories in Padang. Afterward, using Most Probable Number (MPN) method with 5:1:1 combines to test the bacteriologies. It has result that the MPN Coliform index and *Eschericia coli* on 3 lemonade factories between 2,2-240. This qualities are poor and not proper to be consumption.



DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	i
ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan.....	3
1.4 Manfaat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Minuman Ringan.....	4
2.2 Limun.....	7
2.3 Kualitas Minuman.....	8
2.4 Bakteri koliform dan <i>Eschericia coli</i>	10
III. PELAKSANAAN PENELITIAN	12
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	12
3.2 Metoda Penelitian.....	12
3.3 Alat dan Bahan.....	12
3.4 Cara Kerja.....	13
3.4.1 Pembuatan Medium.....	13
3.4.1.1 Medium Laktosa Broth Single Strength (LB1).....	13
3.4.1.2 Laktosa Broth Double Sterngh (LB ₂).....	13
3.4.1.3 Medium BGLB.....	13
3.4.1.4 Medium Endo Agar.....	14
3.4.1.5 Medium Nutrien Agar.....	14

3.5 Pengamatan.....	14
3.5.1 Menghitung Jumlah populasi.....	14
3.5.2 Penentuan Indeks MPN <i>E.coli</i> dan Koliform	15
3.5.2.1 Pemeriksaan Pendugaan (Presumptive Test)	15
3.5.2.2 Pemeriksaan Penegasan (Confirmed Test).....	16
3.5.2.3 Pemeriksaan Penyempurnaan (Complete Test).....	16
3.6 Analisa Data.....	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Total Bakteri	18
4.2 Uji Bakteriologis.....	20
V. KESIMPULAN DAN SARAN	24
5.1 Kesimpulan	26
5.2 Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	29



DAFTAR TABEL

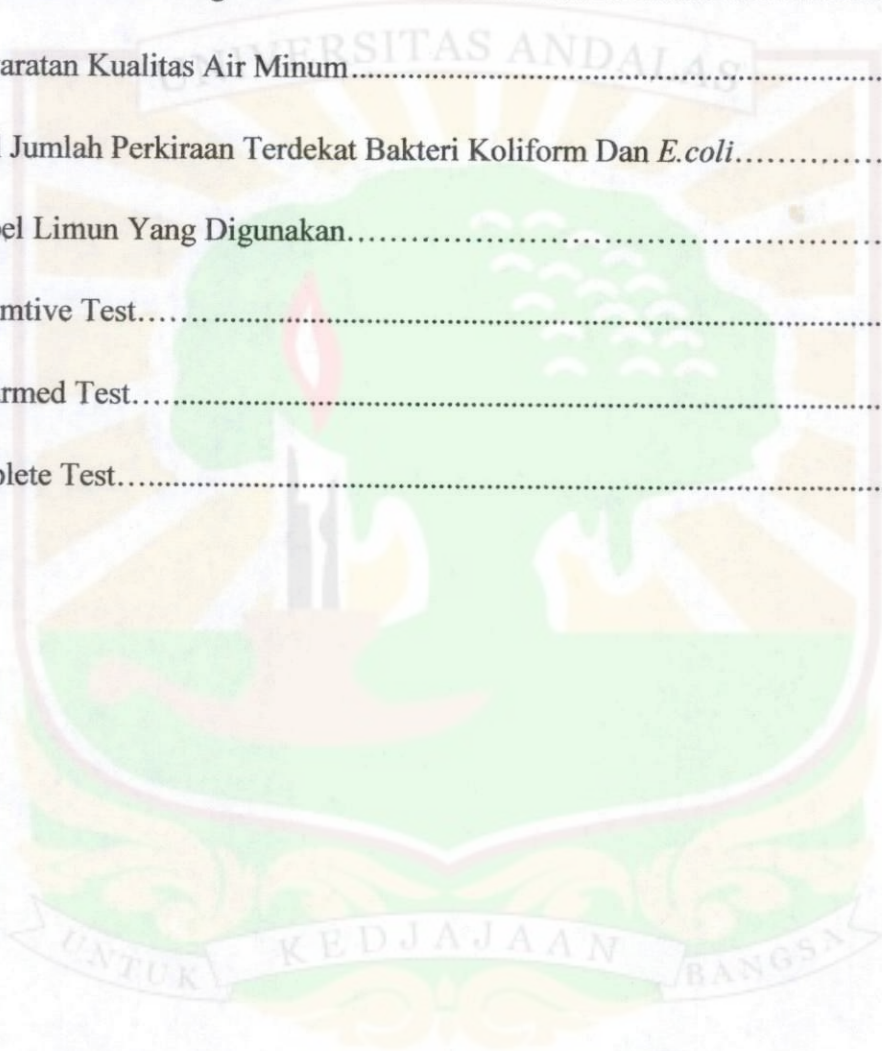
Tabel	Halaman
1. Total bakteri pada sampel limun yang beredar di beberapa daerah di kota Padang yang ditumbuhkan pada media NA	18
2 Indeks MPN Koliform dan <i>E.coli</i> Pada Limun	20
3. Indek MPN per ml tiap 100 ml, ragam 5 x 10 ml; 1 x 1 ml ; 1 x 0,1 ml (Fardiaz, 1993).....	29
4. Persyaratan Kualitas Air Minum Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 907/MENKES/SK/VII/2002, Tanggal 29 Juli 2002 Dilihat Dari Aspek Bakteriologis (Anonymous, 2002).....	30
5. Jumlah Perkiraan Terdekat Bkateri Koliform dan <i>E.coli</i> Pada Sampel Produk Minuman Limun.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Pada Saat Pencucian Botol (A) dan Proses Pembuatan Limun (B).....	20
2 Koloni Bakteri <i>Eschericia coli</i> (A) dan Koloni Bakteri Koliform (B) Pada Media Endo Agar.....	2
3 Sampel Limun Yang Digunakan, Limun Pabrik A (a), Limun Pabrik B (b), dan Limun Pabrik C (c).....	32
4. Medium LB2 (a) dan Medium LB1 (b).....	33
5. Setelah Di Pindahkan Pada Medium BGLB	34
6. Koloni Bakteri <i>E.coli</i> (a) dan Koloni Bakteri Koliform (b) Pada Media Endo Agar	35
7. Koloni Bakteri Pada Media Nutrien Agar.....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Tabel Indeks MPN Ragam 5:1:1	29
2. Persyaratan Kualitas Air Minum.....	30
3. Tabel Jumlah Perkiraan Terdekat Bakteri Koliform Dan <i>E.coli</i>	31
4. Sampel Limun Yang Digunakan.....	32
5. Presumptive Test.....	33
6. Confirmed Test.....	34
7. Complete Test.....	35



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air memegang peranan yang sangat penting bagi kehidupan manusia, karena air dibutuhkan untuk berbagai kegiatan seperti untuk minuman, pertanian, industri, perikanan dan rekreasi. Dalam hal ini bukan saja jumlah air yang penting tetapi mutu air diperlukan untuk penggunaan tertentu, seperti air yang cocok untuk kegunaan industri atau untuk minuman (Buckle, Edwards dan Wooton, 1987).

Dalam penggunaan air bukan saja jumlah air yang terpenting, tetapi mutu air tersebut juga sangat menentukan untuk penggunaan industri atau untuk minum. Air yang dapat diminum dapat diartikan sebagai air yang bebas dari jenis bakteri yang berbahaya dan ketidakmurnian secara kimiawi (Buckle *dkk.*, 1987). Azwar (1983), mengatakan dalam kehidupan sehari-hari amat sukar menentukan dan membedakan air minum yang bebas dari bakteri patogen ataupun tidak, sehingga parameter yang umum dipakai dalam hal ini adalah kehadiran dari *E. coli* pada minuman tersebut.

Minuman ringan adalah minuman yang tidak mengandung alkohol, tetapi minuman yang berkarbonasi yang biasanya dikemas dalam botol, kaleng atau kotak kardus seperti Coca-Cola, Fanta, Pepsi dan Limun (Anonymous, 2010 a). Limun merupakan minuman ringan yang dibuat dengan cara sederhana dan merupakan industri rumah tangga. Dewasa ini limun sudah jarang ditemukan, karena banyak minuman bermerek yang dipasarkan. Limun hanya dijual diwarung dipinggir kota (Anonymous, 2010 c).

Limun termasuk minuman ringan yang berkarbonasi. Karbonasi tersebut berasal dari gas CO₂ yang berfungsi untuk penyegar dan juga dapat membunuh bakteri dan mikroba yang terdapat dalam minuman tersebut (Afandi, 2009). Limun ini masih banyak diminati oleh masyarakat, ini dibuktikan dengan masih banyaknya orang menjual limun di kedai-kedai atau warung.

Limun asal katanya *Limonade*, *limonade* berasal dari kata *Perancis*, yang berarti sebuah air jeruk rasa manis atau soda berkarbonasi, yang disebut juga "minuman ringan.". Di Inggris, akhiran *-ade* berarti minuman ringan manis berkarbonasi salah satunya adalah limun. Limun adalah lemon rasa-minuman, biasanya terbuat dari lemon, air dan gula (Anonymous, 2010 b).

Survei yang telah dilakukan pada beberapa tempat produksi limun ditemukan fakta bahwa proses pembuatan limun kurang memenuhi syarat kesehatan seperti tempat pembuatan dan alat yang digunakannya kurang bersih. Kemudian produksi limun yang dijual di beberapa warung/kedai secara visual tidak memenuhi syarat kesehatan seperti tutup botol yang sudah berkarat, ada benda asing pada limun dan limun berbusa. Disamping itu gas CO₂ yang terdapat pada limun secara visual tidak sesuai dengan yang dianjurkan. Hal ini, ditunjukkan dengan tidak adanya atau sedikit gelembung gas pada limun.

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian tentang "Kondisi Bakteriologis Limun Yang Di Pasarkan Di Kota Padang".

1.2 Rumusan Masalah

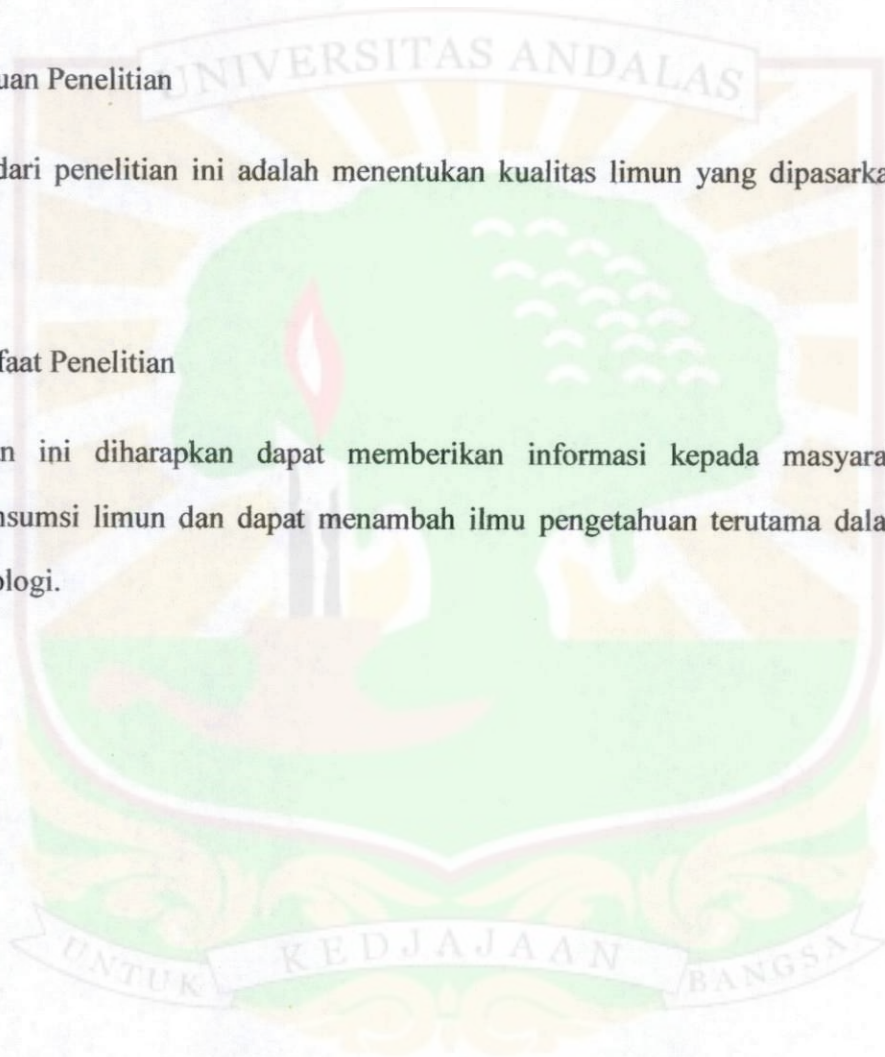
Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan, yaitu: Bagaimanakah kualitas limun ditinjau dari aspek bakteriologis?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kualitas limun yang dipasarkan di kota Padang.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat yang mengkonsumsi limun dan dapat menambah ilmu pengetahuan terutama dalam bidang mikrobiologi.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minuman Ringan

Minuman ringan (*soft drink*) adalah minuman yang tidak mengandung alkohol, merupakan minuman olahan dalam bentuk bubuk atau cair yang mengandung bahan makanan atau bahan tambahan lainnya baik alami maupun sintetik yang dikemas dalam kemasan siap untuk dikonsumsi. Minuman ringan terdiri dari dua jenis, yaitu: minuman ringan dengan karbonasi (*carbonated soft drink*) dan minuman ringan tanpa karbonasi (Anonimos, 2010 a).

Minuman ringan dengan karbonasi adalah minuman yang dibuat dengan mengabsorpsikan karbondioksida ke dalam air minum. Minuman ringan tanpa karbonasi adalah minuman selain minuman ringan dengan karbonasi (Afandi, 2009).

Bahan makanan dan tambahan lainnya yang ditambahkan dalam minuman ringan terdiri dari:

- a. Bahan makanan alami meliputi buah-buahan atau produk dari buah-buahan, daun-daunan atau produk dari daun, akar-akaran, batang atau kayu tumbuhan, rumput laut, susu atau produk dari susu.
- b. Bahan makanan sintetik meliputi sari kelapa, vitamin, stimulan.
- c. Tambahan lainnya meliputi: pemberi rasa, pemberi asam, pemberi aroma, pewarna dan pengawet, garam.

Berikut ini disampaikan penjelasan-penjelasan mengenai hal-hal yang berkaitan dengan minuman ringan:

1. Air berkarbonasi merupakan kandungan terbesar di dalam *carbonated soft drink*. Air yang digunakan harus mempunyai kualitas tinggi, yaitu: jernih, tidak berbau, tidak berwarna, bebas dari organisme yang hidup dalam air, alkalinitasnya <50 ppm, total padatan terlarut <500 ppm, dan kandungan logam besi dan mangan <0.1 ppm. Sederet proses diperlukan untuk mendapatkan kualitas air yang diinginkan, antara lain: klorinasi, penambahan kapur, koagulasi, sedimentasi, filtrasi pasir, penyaringan dengan karbon aktif, dan demineralisasi dengan ion exchanger. Carbondioxida yang digunakan juga harus semurni mungkin dan tidak berbau. Air berkarbonasi dibuat dengan cara melewatkan es kering (*dry ice*) ke dalam air es.
2. Bahan pemanis yang digunakan dalam minuman ringan terbagi dalam dua kategori:
 - a. Natural (*nutritive*), antara lain gula pasir, gula cair, gula invert cair, sirup jagung, dengan kadar fruktosa tinggi, dan dekstroza
 - b. Sintetik (*non nutritive*), yaitu sakarin.
3. Pemberi asam (*acidulants*) ditambahkan dalam minuman dengan tujuan untuk memberikan rasa asam, memodifikasi manisnya gula, berlaku sebagai pengawet, dan dapat mempercepat inversi gula dalam sirup/minuman. *Acidulant* yang digunakan dalam minuman harus dari jenis asam yang dapat dimakan (*edible/food grade*) antara lain asam sitrat, asam phosphate, asam malat, asam tartarat, asam fumarat, asam adipat, dan lain-lain.
4. Pemberi aroma disiapkan oleh industri yang berkaitan dengan industri minuman dengan formula khusus, kadang-kadang telah ditambah dengan asam dan pewarna, dalam bentuk:
 - Ekstrak alkoholik (menyaring bahan kering dengan larutan alkoholik), misalnya: jahe, anggur, *lemon-lime* dan lain-lain

- Larutan alkkoholik (melarutkan bahan dalam larutan air-alkohol), misalnya: *strawberry, cherry, cream soda* dan lain-lain.
 - Emulsi (mencampur *essential oil* dengan bahan pengemulsi, misalnya: *vegetable gum*), misalnya untuk *citrus flavor, rootbeer* dan kola.
 - *Fruit juices*, misalnya: *orange, grapefruit, lemon, lime* dan *grape*.
 - *Caffeine*, sebagai pemberi rasa pahit (bukan sebagai stimulan)
 - Ekstrak biji kola.
 - *Sintetik flavor*, misalnya: *ethyl acetate/amyl butyrate* yang memberikan aroma *grape*.
6. Pewarna untuk meningkatkan daya tarik minuman: natural, misalnya dari *grape, strawberry, cherry* dan lain-lain. Semi sintetik, misalnya: *caramel color* Pengawet, misalnya asam sitrat untuk mencegah fermentasi dan sodium benzoate.
7. Proses pembuatan:
- Proses produksi dimulai dengan pembuatan sirup, yaitu mencampur gula dengan air dingin, kemudian dijernihkan dengan penambahan karbon aktif dan bahan penyaring yang dilanjutkan dengan penyaringan menggunakan alat berupa plat atau frame filter. Larutan sirup kemudian dapat disterilisasi dengan penyinaran ultra violet. Sirup, bahan tambahan, air, dan karbondioksida diaduk dengan temperatur dan tekanan diatur pada kondisi tertentu, kemudian produk akhir berupa minuman ringan dikemas dalam botol/kaleng.
8. Pengemasan, minuman berkarbonat umumnya dikemas dalam botol (gelas atau plastik) atau kaleng, sedangkan minuman tanpa karbonat dapat juga dikemas dalam kotak kardus dengan persyaratan umum sebagai berikut: a). Mempunyai kekuatan mekanis sehingga dapat menjaga mutu, penampilan dan kandungan produk, b).

Mempunyai penampilan yang menarik, c). Steril pada setiap pemakaian, d). Mudah dalam pengisian maupun penyegelan.

Masing-masing pengemas mempunyai kelebihan dan kekurangan antara lain:

- a. Botol gelas, dapat digunakan ulang (*reuse*) tanpa mengalami pengolahan atau perubahan bentuk, akan tetapi harus melalui proses pencucian dan sterilisasi dengan menggunakan detergent dan soda kaustik.
- b. Botol plastik, dapat didaur ulang (*recycle*) dengan pengolahan fisik atau kimiawi untuk menghasilkan produk sama atau produk yang lain.
- c. Kaleng, dapat melindungi produk dari cahaya, mencegah kandungan produk yang mudah teroksidasi karena cahaya maupun udara dalam kaleng, akan tetapi relatif lebih mahal karena dibuat dari bahan tahan korosi misalnya dari plat baja dengan lapisan timah atau dari aluminium.
- d. Kotak kardus, kekuatan mekanisnya relatif lebih rendah, umur produk singkat (Anonymous, 2010 a)

2.2 Limun

Minuman ringan atau dikenal juga dengan nama soft drink merupakan minuman yang tidak mengandung alkohol. Beberapa jenis minuman ringan yang paling terkenal di seluruh dunia adalah minuman berkarbonasi yang mengandung kola seperti Coca-Cola, Pepsi, Fanta dan Limun. Di Indonesia produk lokal yang terjual laris adalah teh seperti Tehbotol. Selain itu minuman ringan juga tersedia dalam berbagai rasa, umumnya buah-buahan (Anonymous, 2010 a).

“Soft drink” yang dikenal sebagai minuman ringan, disebabkan memiliki kandungan gizi yang rendah. Minuman ini, selain kadar gulanya yang tinggi, tidak memiliki zat gizi lain yang berarti. Dewasa ini berbagai jenis produk minuman ringan beredar di pasaran. Ada yang beraroma buah cola, ada yang berflavor buah jeruk, ada pula jenis flavor lain seperti rasa nanas, coffee cream, root beer sampai cream soda (Baharuddin, 2009).

Survey pengolahan limun pada masyarakat pada umumnya seperti berikut: bahan – bahan yang digunakan dalam pembuatan limun adalah air secukupnya, gula pasir, essence limun, zat pewarna, gas CO₂, dan zat rasa. Cara pembuatannya adalah gula pasir dilarutkan kedalam air yang sudah dimasak sampai terasa manis, setelah itu di campurkan zat pewarna dan zat rasa kedalamnya, lalu dimasukkan kedalam masing – masing botol, dan dimasukkan gas CO₂, botol tersebut ditutup dan diberi label. Siap untuk dipasarkan.

2.3 Kualitas Minuman

Minuman ringan dapat mempengaruhi kesehatan karena didalam minuman ringan tersebut mengandung kafein yang dapat menurunkan jumlah produksi dan kualitas sperma, memicu ketagihan dan gejala sakit kepala, insomnia dan perasaan gelisah dalam waktu singkat. Selain itu minuman ringan juga mengandung gula yang tinggi sehingga dapat menyebabkan diabetes dan kerusakan gigi (Anonymous, 2010 d).

Suriawiria (1986), mengatakan bahwa kualitas air dapat dihubungkan dengan tingkat pencemaran air tersebut. Air yang sudah tercemar biasanya mengandung bermacam mikroorganisme yang terdiri dari bakteri, ragi, jamur serta mikroorganisme

lainnya. Pelczar dan Chan (1988), mengatakan untuk mengetahui tercemar atau tidaknya air yang dikonsumsi baik air yang telah diolah atau belum digunakan mikroorganisme sebagai indikator. Ciri penting suatu mikroorganisme indikator terdiri dari : 1) terdapat dalam air tercemar dan tidak ada dalam air yang tidak tercemar, 2) terdapat dalam air bila ada patogen, 3) memiliki kemampuan bertahan hidup yang lebih besar dari pada patogen, 4) tidak berbahaya bagi manusia dan hewan, 5) terdapat dalam jumlah yang lebih banyak dari pada patogen (hal ini membuat ia mudah dideteksi) dan 6) mudah dideteksi dengan teknik yang sederhana.

Khusus dari segi kualitas harus memenuhi syarat kualitas fisik, kimia, mikrobiologi dan radioaktivitas (WHO, 2004). Kualitas fisik yang dimaksud mencakup beberapa parameter yaitu kekeruhan, warna, rasa dan bau. Rasa dan bau dapat berasal dari keadaan alamiah air yang mengandung bahan kimia organik dan anorganik dan dapat pula karena adanya proses biologi seperti mikroorganisme air (Irianti dan Sasimartoyo, 2006).

Prosedur penentuan koliform sebagai indikator dalam pemeriksaan air secara bakteriologis adalah dibuat atas kerjasama American Public Health Association dan American Work Association yang terdiri atas pemeriksaan pendugaan (*Presumptive test*), pemeriksaan penegasan (*Confirmed test*), dan pemeriksaan penyempurnaan (*Completedd test*). Pemeriksaan ini didasarkan atas perkiraan terdekat jumlah bakteri golongan Coli yang terdapat pada 100 ml sampel (Burrows, 1968).

Burrows (1968), mengelompokkan air minum kedalam beberapa kelas yaitu :

No	Kualitas	Jumlah koliform per 100 ml
1	Sangat memuaskan	Kurang dari 1
2	Memuaskan	Antara 1 – 2
3	Diragukan	Antar 3 – 10
4	Tidak memuaskan	Lebih dari 10

2.4 Bakteri Koliform dan *Escherichia coli*

Golongan bakteri *coli*, merupakan jasad indikator di dalam substrat air, bahan makanan dan sebagainya untuk kehadiran jasad berbahaya yang mempunyai persamaan sifat: Gram negatif berbentuk batang, tidak membentuk spora dan mampu memfermentasikan laktosa pada temperatur 37⁰ C dengan membentuk asam dan gas (Suriawiria, 1996).

Bakteri *Coliform* berdasarkan asal dan sifatnya dibagi menjadi dua golongan:

- 1). *Coliform* fekal, seperti *Escherichia coli* yang betul-betul berasal dari tinja manusia.
- 2). *Coliform* non fekal, seperti *aerobacter* dan *Klebsiella* yang bukan berasal dari tinja manusia tetapi biasanya berasal dari hewan atau tanaman yang telah mati (Suriawiria, 1996).

Sifat-sifat "*Coliform Bacteria*" yang penting adalah:

- a). Mampu tumbuh baik pada beberapa jenis substrat dan dapat mempergunakan berbagai jenis karbohidrat dan komponen organik lain sebagai sumber energi dan beberapa komponen nitrogen sederhana sebagai sumber nitrogen.
- b). Mempunyai sifat dapat mensistesa vitamin.
- c). Mempunyai interval suhu pertumbuhan antara 10-46,5⁰ C.
- d). Mampu menghasilkan asam dan gas.

e). Dapat menghilangkan rasa pada bahan pangan (Suriawiria, 1996).

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif, bergerak dengan flagel peritrik, mudah tumbuh pada media sederhana dan dapat menghidrolisis laktosa (Bonang dan Koeswardono, 1982). Sel berbentuk batang tunggal, berukuran 0,4-0,7 μm x 1-3 μm , bersifat anaerob fakultatif, biasanya tidak berkapsul, tidak berspora dan menghasilkan gas dari hidrolisis glukosa (Pelczar and Chan, 1988).

Escherichia coli merupakan 25% penyebab diare di negara berkembang, dapat menyebabkan diare mulai dari dehidrasi ringan sampai dehidrasi berat (Depkes, 1990). "Enterotoxigenic *E. coli*" (ETEC) adalah penyebab utama diare yang disebabkan *E. coli* (Simanjuntak, 1989, cit. Utamadewi, 1995). Dengan masa inkubasi selama 1-3 hari dengan gejala menyerupai gejala-gejala keracunan bahan pangan yang tercemar oleh *Salmonella* (Buckle dkk., 1987).

Escherichia coli adalah penghuni normal saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas. Strain-strain tertentu dari *E. coli* tidak bersifat patogen pada manusia bahkan *E. coli* dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri-bakteri usus yang patogen seperti, *Shigella*, *Salmonell* dan *Vibrio* (Pelczar dan Chan, 1988).

III. PELAKSANAAN PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian ini telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Andalas Padang, dari bulan Oktober 2010 – November 2010.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan adalah metode deskriptif. Pengambilan sampel dilakukan secara purposive sampling pada 3 pabrik limun dengan jumlah sampel sebanyak 15 botol limun.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, petridis, erlemeyer, pipet tetes, pipet ukur, gelas ukur 500 ml, timbangan analitik, batang pengaduk, tabung durham, autoklaf, inkubator, jarum ose, lampu spiritus, hot plate dan kamera digital.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah air limun, aquadest, medium nutrien agar (NA) instan, medium laktosa broth single strength (LB₁) instan, medium laktosa broth double strength

(LB₂) instan, medium brilliant green bile laktosa broth (BGLB) instan, medium endo agar instan, alkohol 96%, spritus, tissue dan kapas.

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Pembuatan Medium

3.4.1.1 Medium Laktosa Broth Single Strength (LB₁)

Dilarutkan sebanyak 13 gr medium LB₁ dengan 1000 ml aquadest, kemudian dipanaskan sampai homogen. Larutan dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml yang telah berisi tabung Durham dalam keadaan terbalik, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

3.4.1.2 Laktosa Broth Double Strength (LB₂)

Dilarutkan sebanyak 26 gr medium LB₂ dengan 1000 ml aquadest, kemudian dipanaskan sampai homogen. Larutan dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 10 ml yang telah berisi tabung Durham dalam keadaan terbalik, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

3.4.1.3 Medium BGLB

Dilarutkan 40 gram medium BGLB dalam 1000 ml aquadest dan dipanaskan sampai homogen, larutan dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 10 ml yang telah berisi tabung durhan dalam keadaan terbalik kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15-30 menit.

3.4.1.4 Medium Endo Agar

Dilarutkan serbuk endo agar sebanyak 41,5 gr kedalam 100 ml aquadest, dipanaskan sampai homogen dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 – 30 menit kemudian masukkan kedalam petridish steril.

3.4.1.5 Medium Nutrien Agar

Dimasukkan 23 gr medium Nutrien ke dalam gelas ukur yang berisi 1000 ml aquadest. Selanjutnya campuran ini dipanaskan sampai homogen dengan batang pengaduk di atas *hotplat*, kemudian medium disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.5 Pengamatan

3.5.1 Menghitung Jumlah Populasi Bakteri

Penghitungan jumlah bakteri pada sampel air dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Sampel air sebanyak 1 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air suling steril. Diambil sampel sebanyak 1 ml, dimasukkan dalam testube yang berisi 9 ml air suling steril. Dilakukan pengenceran hingga 10^{-6} . 1 ml hasil pengenceran ditanamkan secara pourplate yang berisi media NA ke dalam petridish, yang ditanam merupakan hasil dari pengenceran 10^{-1} sampai dengan pengenceran 10^{-6} dan diinkubasikan selama 24 jam pada suhu kamar. Kemudian diamati dan dihitung jumlah koloni yang ada dengan menggunakan *coloni counter*. Jumlah koloni dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$BO \equiv D \cdot C$$

Keterangan : BO = Jumlah sel bakteri dalam 1 ml sampel

D = Faktor pengenceran

C = Jumlah koloni bakteri.

(Volk dan Wheeler, 1993).

3.5.2 Penentuan Indek MPN *E. coli* dan Koliform

Pemeriksaan limun secara bakteriologis dilakukan dengan metode MPN (Most Probable Number) (5,1,1) dengan 3 tahap pengujian yaitu uji pendugaan (*Presumptive Test*), uji penegasan (*Confirmed Test*), dan uji pelengkap (*Completed Test*). Sampel air limun terlebih dahulu disaring dengan kapas steril sebelum digunakan.

3.5.2.1 Pemeriksaan Pendugaan (*Presumptive Test*).

Disediakan 7 tabung reaksi, dimana 5 tabung masing – masing berisi LB double strength sebanyak 10 ml dan 2 tabung lainnya berisi 10 ml LB single strength. Sebanyak 10 ml sampel air dimasukkan masing-masing ke dalam lima tabung reaksi yang berisi medium LB₂ dan 1 ml ke dalam tabung reaksi yang berisi medium LB₁ serta 0,1 ml sampel ke dalam tabung yang berisi medium LB₁ yang lain. Lalu diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 – 28 jam. Sebelum penanaman di setiap tabung reaksi dimasukkan satu tabung Durham yang diletakkan secara terbalik. Kemudian diamati masing – masing tabung untuk melihat ada atau tidaknya gas. Bila terlihat gelembung halus maka tabung ini dianggap positif (SNI, 1992).

3.5.2.2 Pemeriksaan Penegasan (Confirmed Test).

Bila hasil pemeriksaan pendugaan di dapatkan gelembung gas (hasil positif) maka dilakukan kembali penanaman lanjut untuk uji penegasannya. Diambil 1 ml dari hasil pemeriksaan pendugaan pada medium LB₁ dan 1 ml dari hasil pemeriksaan pendugaan dari medium LB₂, masing-masing hasil pemeriksaan pendugaan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah diisi medium BGLB steril. Masing-masingnya dibuat untuk 2 tabung percobaan, satu seri disimpan dan diinkubasi pada suhu 37°C dan satu seri disimpan pada suhu 44°C. Selanjutnya hasil yang didapat disesuaikan dengan indeks MPN, setelah 48 jam berikutnya kembali diamati hasil percobaan untuk melakukan pengujian selanjutnya berdasarkan hasil positifnya (SNI, 1992).

3.5.2.3 Pemeriksaan Penyempurnaan (Complete Test)

Berdasarkan hasil yang positif pada percobaan dua maka untuk melakukan uji penyempurnaan dilakukan penanaman pada medium Endo Agar secara streak plate. Kemudian diinkubasi lagi pada suhu kamar, didalam melakukan penanaman hasil-hasil yang positif tersebut dibedakan pada dua cawan petri menurut suhu inkubasinya semula pada test penegasan untuk memudahkan dan dapat dibedakan dalam pengamatan koloni yang tumbuh apakah *E. coli* atau koliform lainnya. Bila koloni yang tumbuh berwarna kilat logam mencirikan adanya *E. coli* sedangkan koloni yang berwarna merah muda merupakan bakteri koliform lainnya (SNI, 1992).

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada dewasa ini limun sudah jarang terlihat dijual di warung maupun kedai-kedai, namun peminat limun masih ada, hal ini dibuktikan bahwasanya masih terdapat produk limun yang dijual dipasaran. Dari survei yang telah dilakukan, proses pembuatan limun dipabrik tidak memenuhi standar kesehatan seperti, pencucian botol, penambahan CO₂, proses pengadukan, kebersihan pegawai seperti terlihat pada Gambar 1.



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 1. (a) dan (b) pada saat pengadukan air limun, (c) pada saat pemberian gas CO₂ dan (d) pada saat pencucian botol.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan terhadap kualitas minuman limun, didapatkan data sebagai berikut:

4.1 Total Bakteri

Dari hasil pengamatan total bakteri pada limun yang beredar di beberapa daerah kota Padang, dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Total bakteri dari air limun yang beredar di beberapa daerah di kota Padang

Pabrik	Sampel	Total Bakteri ($\times 10^3$ sel/ml)
A	1	20
	2	2,0
	3	5,0
	4	34
	5	12
B	6	59
	7	24
	8	43
	9	92
	10	50
C	11	18
	12	45
	13	15
	14	93
	15	21

Dari Tabel 1 diatas dapat dilihat bahwa semua sampel limun mengandung bakteri dengan jumlah antara $2,0 \times 10^3 - 93 \times 10^3$ sel/ml. Sampel 14 limun buatan pabrik C mengandung bakteri paling tinggi. Sedangkan limun dari pabrik A (sampel 2)

mengandung bakteri paling rendah. Rata-rata jumlah koloni bakteri yang terdapat dalam masing-masing sampel minuman limun tersebut tidak boleh lebih >100.000 sel/ml, seperti yang dikatakan oleh Frobisher (1974) yang menyatakan bahwa untuk air minum jumlah bakteri secara TPC tidak boleh >100.000 sel/ml. Namun layak atau tidaknya minuman dapat dikonsumsi harus berdasarkan standar dari menteri kesehatan yang mensyaratkan Koliform dan *E.coli* harus nol untuk air minum.

Adanya bakteri pada sampel limun, hal ini kemungkinan disebabkan sanitasi pada pembuatan limun kurang bersih. Fakta dilapangan menunjukkan sumber air yang digunakan untuk pembuatan limun tersebut kurang bersih karena menggunakan air galon, dari beberapa penelitian yang dilakukan air galon sebagian mengandung bakteri Koliform dan *E.coli* atau juga dipengaruhi oleh lingkungan yang kurang bersih serta alat – alat yang digunakan juga tidak memenuhi syarat kesehatan seperti terlihat pada Gambar 1. Disamping itu kemungkinan juga kadar CO₂ yang dimasukkan tidak sesuai dengan kadar yang diinginkan. Dimana seharusnya dengan adanya karbondioksida didalam minuman limun dapat membunuh mikroba yang ada didalamnya. Berdasarkan penelitian Afandi (2009), karbondioksida dalam jumlah dan tekanan yang optimal dapat menghambat dan mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yang terkandung dalam minuman berkarbonasi.

4.2 Uji Bakteriologis

Dari penelitian uji bakteriologis yang telah dilakukan pada minuman limun yang beredar di kota Padang, dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Indeks MPN Koliform dan *E.coli* pada Limun

Pabrik	Sampel	Indeks MPN		Kelas
		Koliform	<i>E.coli</i>	
A	1	38	15	IV
	2	15	15	IV
	3	2,2	2,2	II
	4	2,2	2,2	II
	5	2,2	2,2	II
B	6	96	96	IV
	7	96	96	IV
	8	240	240	IV
	9	240	240	IV
	10	240	240	IV
C	11	5,0	5,0	III
	12	15	15	IV
	13	38	38	IV
	14	38	38	IV
	15	8,8	8,8	III

Keterangan : Kualitas I : Baik sekali / sangat memuaskan

II : Memuaskan

III: Diragukan

IV: Tidak Baik/Tidak memenuhi syarat (Burrows, 1968).

Dari Tabel 2 diatas dapat dilihat bahwa semua sampel limun mengandung Koliform dan *E.coli* dengan indeks antara 2,2 – 240. Sampel 8 – 10 mengandung Koliform dan *E.coli* paling tinggi sedangkan sampel 3 – 5 mengandung Koliform dan *E. coli* paling rendah. Hal ini berarti semua limun yang diperiksa tidak memenuhi syarat yang dikeluarkan oleh Depkes walaupun menurut Burrows (1968) menyatakan pada pabrik A (3,4,5) termasuk kategori kelas memuaskan bukan berarti limun tersebut layak untuk dikonsumsi tetapi kelayakannya harus berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI No.907/MENKES/SK/VI/2002 mengenai persyaratan kualitas air minum bahwa nilai MPN untuk Koliform per 100 ml per satuan sampel harus 0 dan *E. coli* per 100 ml per satuan sampel harus 0 (Anonymous, 2002).

Terdapatnya Koliform atau *E.coli* pada limun, hal ini kemungkinan disebabkan air yang digunakan sebagai sumber baku limun telah tercemar oleh bakteri Koliform dan *E.coli*. Pada penelitian ini, pabrik limun menggunakan air galon sebagai bahan baku pada proses pembuatan limun. Kemungkinan air galon telah tercemar dengan Koliform dan *E.coli*. dari penelitian Saffitri (2010), ada air galon yang mengandung Koliform dan *E.coli*.

Layak atau tidaknya air minum secara bakteriologis untuk dikonsumsi tergantung dari jumlah bakteri kelompok Koliform yang ditemukan dalam air minum. Untuk kelayakan air minum menurut Pitojo dan Purwantoyo (2002) dibagi kedalam beberapa kelas, yaitu air minum kelas A kategori baik adalah tidak mengandung bakteri Koliform dan *E.coli*; air minum kelas B kategori kurang baik mengandung bakteri Koliform 1-50 dan *E.coli* 1-10; air minum kelas C kategori jelek mengandung Koliform 51-100 dan *E.coli* 10-50; air minum kelas D kategori amat jelek mengandung Koliform 101-1000 dan *E.coli* 51-100; dan air minum kelas E kategori amat jelek mengandung Koliform >1000 dan *E.coli* >100. Berdasarkan pembagian kelas diatas, limun pabrik A (3,4,5) dan limun pabrik C (11,15) termasuk kategori kelas B, limun pabrik A (1,2) dan limun pabrik C (12,13,14) termasuk kategori kelas C, limun pabrik B (6,7) termasuk kategori kelas D dan limun pabrik B (8,9,10) termasuk kategori kelas E.

Jika dalam suatu minuman ditemukan Koliform dan *E.coli* dalam jumlah yang besar dari ketentuan yang berlaku maka makanan dan minuman yang diproduksi tersebut tidak baik untuk dipasarkan dan tidak layak untuk dikonsumsi karena akan memberikan efek yang negatif kepada konsumennya. Jika ditemukan *E.coli* dan Koliform berarti limun tersebut tercemar dengan feses dan berindikasi adanya bakteri patogen. Seperti yang dikemukakan oleh Pelczar dan Chan (1988) bahwa kehadiran *Eschericia coli* dan kelompok Koli lainnya didalam air merupakan

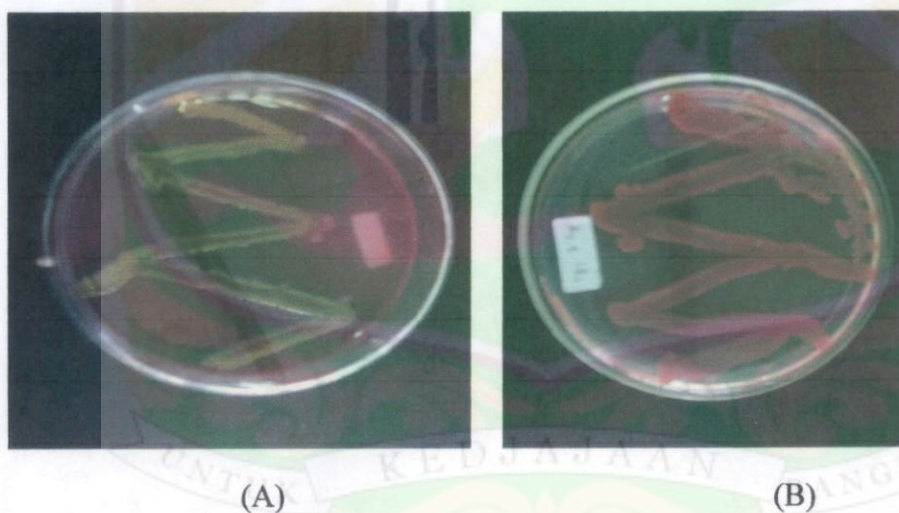
bukti bahwa air tersebut terpolusi oleh bahan tinja dari manusia atau hewan berdarah panas. Artinya terdapat peluang dari berbagai macam mikroorganisme patogenik, yang secara berkala terdapat dalam saluran pencernaan, untuk masuk kedalam air tersebut. Bakteri golongan ini menjadi indikator untuk mengetahui tercemar atau tidaknya air minum tersebut. Seperti yang disebutkan oleh Hujjatusnaini (2009) cit Syaffitri (2010), kehadiran bakteri Koliform merupakan indikator biologi adanya kontaminasi sampah atau feses terhadap sumber air. Alasan ini diperkuat oleh Irianti dan Sasimartoyo (2006) yang menyatakan indikator utama yang dipakai dalam menentukan kualitas mikrobiologi adalah kehadiran bakteri *E.coli*. Bakteri ini biasa terdapat dalam tinja manusia maupun hewan berdarah panas dan sangat jarang ditemui ditempat bebas dari pencemaran tinja, namun terbukti dapat tumbuh ditanah yang beriklim tropis. Bakteri *E.coli* sangat peka terhadap proses disinfeksi dibandingkan dengan protozoa dan virus yang menyebabkan penyakit perut.

Bakteri indikator sanitasi adalah bakteri yang keberadaannya dalam pangan menunjukkan bahwa air atau makanan tersebut pernah tercemar oleh feses manusia. Bakteri-bakteri indikator sanitasi umumnya adalah bakteri yang lazim terdapat dan hidup pada usus manusia. Jadi, adanya bakteri tersebut pada air atau makanan menunjukkan bahwa dalam satu atau lebih tahap pengolahan air atau makanan, pernah mengalami kontak dengan feses yang berasal dari usus manusia (Widianty et al, 2004 cit Eldawati, 2010). Judkins dan Keener (1986) cit Hastuti (2005) menyatakan bahwa, persyaratan yang harus dipenuhi oleh air yang berkualitas baik adalah: bebas dari mikroba pathogen, rendah dalam jumlah total bakteri dan bebas dari bau yang tidak diinginkan.

Kualitas yang tidak baik ini kemungkinan berasal dari sumber air yang diambil kurang memenuhi standar kesehatan dan pada proses pembuatan yang kurang steril sehingga banyak atau ada dijumpai bakteri atau menunjukkan bahwa air

tersebut terkontaminasi oleh bakteri yang bisa saja berasal dari feses hewan berdarah panas dan manusia, atau dari tanah sebagai sumber air. Sebagaimana yang diungkapkan oleh Suriawiria (1985), bakteri golongan Koliform disamping hidup pada usus hewan berdarah panas juga didapatkan pada tanah dan sayur-sayuran khususnya dari golongan atypical.

Terdapatnya Koliform dan *E.coli* pada minuman limun dipertegas pada uji penyempurnaan koloni *E.coli* pada medium endo agar berwarna merah kilat logam dan koloni Koliform berwarna merah jambu (Gambar 2). Menurut Buckle et al, (1987) bahwa dari test tube yang positif dari uji penegasan, ditanamkan pada medium endo agar secara streak plate, kemudian diinkubasikan pada temperatur kamar selama 24-48 jam, bila koloni berwarna merah jambu mencirikan adanya Koliform sedangkan koloni berwarna kilat logam mencirikan adanya *E.coli*



Gambar 2. Koloni bakteri *E.coli* (A) dan koloni bakteri Koliform (B) pada media endo agar.

Air minum yang telah terkontaminasi dengan bakteri Koliform atau bakteri patogen lainnya, penyebabnya tidak hanya berasal dari kesalahan pengolahan. Penyebab kontaminasi bisa saja berasal dari peralatan yang digunakan tidak bersih atau jarang dibersihkan dan lebih parahnya lagi penyebab kontaminasi berasal dari

sumber air yang digunakan. Walaupun bakteri pencemar pada sumber air ditemukan dalam jumlah sedikit, namun proses yang dilalui air mulai dari sumber air, masuk melalui pipa – pipa PDAM menuju depot bisa saja berkembang biak dan bertambah banyak. Menurut Suprihatin (2003) cit Syaffitri (2010), kualitas air minum yang dihasilkan sangat ditentukan oleh sumber air baku yang digunakan serta proses pengolahan air baku dan mutu peralatan yang digunakan oleh depot air minum isi ulang tersebut.

Air minum yang aman dan sehat serta terjangkau dalam jumlah yang mencukupi adalah hak azazi setiap manusia sebagai syarat untuk mencapai kesehatan yang optimal, dalam rangka keadilan untuk mengurangi kemiskinan, meningkatkan kesejahteraan social dan ekonomi. Ketersediaan air minum/air bersih dan sanitasi yang memenuhi syarat kesehatan dan prilaku hidup bersih dan sehat, mempunyai dampak yang besar dalam meningkatkan derajat kesehatan masyarakat. Maka sejalan dengan paradigm sehat, pembangunan kesehatan sekarang ini lebih ditekankan pada upaya preventif dan promotif, termasuk upaya penyediaan dan penyehatan lingkungan serta peningkatan prilaku hidup sehat dan bersih kepada masyarakat yang mempunyai daya ungkit yang besar dalam meningkatkan derajat kesehatan masyarakat (Achmadi, 2001).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan mengenai kondisi bakteriologis limun yang dipasarkan di beberapa daerah di kota Padang, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Total bakteri yang terdapat pada limun berkisar antara $2,0 \times 10^3$ – 93×10^3 sel/ml.
2. Indeks MPN Koliform dan *E.coli* pada limun berkisar antara 2,2-240.
3. Kondisi minuman limun yang di periksa tidak layak untuk dikonsumsi karena mengandung Koliform dan *E.coli*.

5.2 Saran

Disarankan kepada konsumen agar lebih berhati-hati dalam memilih minuman, dan disarankan kepada pabrik limun untuk lebih memperbaiki proses pembuatan limun dan lebih memperhatikan kondisi lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonimous. 2010 a. [Http://www.minuman_ringan.htm](http://www.minuman_ringan.htm). Diakses 08 Mei 2010.
- Anonimous. 2010 b. [Http://www.limonade.htm](http://www.limonade.htm). Diakses 21 September 2010.
- Anonimous. 2010 c. [Http://www.limun/nostalgia_rasa_sarsaparila.htm](http://www.limun/nostalgia_rasa_sarsaparila.htm). Diakses 08 Mei 2010.
- Anonimous. 2010 d. http://www.repuplika.co.id/minuman_ringan_tak_sehat_dan_membuat_ketagihan.htm. Diakses 15 Agustus 2010.
- Afandi, Baharuddin. 2009. Pengaruh CO₂ Murni Terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Pada Produk Minuman Fanta di PT.Coca Cola Botting Indonesia Unit Medan. Karya Ilmiah. Universitas Sumatra Utara.
- Azwar, A. 1983. Pengantar Ilmu Kesehatan Lingkungan. Penerbit Mutiara. Jakarta
- Badan Standarisasi Nasional. SNI 01-3553-1996: Cara Penentuan MPN (Most Probable Number). Jakarta: Badan Standarisasi Nasional, 1991.
- Badan Pemeriksaan Obat-obatan dan Makanan. 2005. Tingkat Keracunan Makanan. [http// www. pm. go. Id/ public/ siker/ default.asp](http://www.pm.go.Id/public/siker/default.asp). 8 Juni 2009.
- Buckle, R. A., Edwards, G. H., Wooton, F. M.. 1987. Ilmu Pangan. Diterjemahkan oleh Purnono H, Adiono. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Burrows, W. 1968. Textbook of Mikrobiology. ed 19. W.B Saunders Company. London
- Departemen Kesehatan R. I. 1991. Petunjuk Pemeriksaan Bakteriologis Air: Jakarta.
- Eldawati, 2010. Pemeriksaan Kualitas Air Sumur pada Pemukiman Penduduk di Kota Padang. Universitas Andalas. Padang.
- Frobisher, M. 1974. Fundamental of Microbiology. W.B. Saunders Company Inc: London.
- Hastuti, 2005. Pemeriksaan Secara Bakteriologis Air Minum Isi Ulang SMS Depot Pondok. Universitas Andalas. Padang.

- Irianti, S dan T.P. Sasimartoyo. 2006. Surveilans Kualitas Air Minum dari Sumber Penyediaan Air Minum Masyarakat. Jurnal Teknik Lingkungan, Edisi Khusus, Agustus 2006 (Priana Sudjono, F.J. Nugroho dan W. Hadi Editor). Buku 1 : 93-102. ITB Bandung.
- Pelczar, M. J. dan E. C. S. Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Suprihatin. 2003. Keamanan Air Minum Isi Ulang. <http://www.air.bapenas.go.id/doc/pdf/kliping/keamanan%20air%20@0minum%20isi%20ulang.pdf>. 17 November 2009.
- Suriawiria U. 1996. Mikrobiologi Air. Edisi kedua. Bandung: Alumni.
- Suriawiria, U. 1985. Mikrobiologi Air. ITB: Bandung.
- Suriawiria, U. 1986. Mikrobiologi Air dan Dasar-Dasar Pengolahan Buangan Secara Biologis. Penerbit Alumni. Bandung.
- Syafitri, D. S. 2010. Pemeriksaan Kualitas Air Minum Isi Ulang Secara Bakteriologis Pada Beberapa Depot Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Nan Sabaris Kab. Padang Pariaman. Universitas Andalas. Padang.
- Utamadewi, B. 1995. Prevalensi Kuman Enterotoxigenic E. coli Labil Panas Pada Balita Penderita Diare di RSUP DR. M. Djamil Padang. Skripsi Sarjana Biologi FMIPA Universitas Andalas. Padang.
- Volk, W. A dan M. F. Wheeler. 1993. Mikrobiologi Dasar ed 1 jilid 5. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- WHO. 2004. Guidelines for Drinking-Water Quality. Third Edition. Volume 1 : Recomentadation. Geneva.

Lampiran 1. Tabel Indek MPN Ragam 5 : 1 : 1

Tabel 3. Indek MPN per ml tiap 100 ml, ragam 5 x 10 ml; 1 x 1 ml ; 1 x 0,1 ml (Fardiaz, 1993)

Jumlah Tabung (+) Gas			Indek MPN per ml Tiap 100 ml
10 ml	1 ml	0,1 ml	
0	0	1	2
0	1	0	2
0	1	1	4
1	0	0	2,2
1	0	1	4,4
1	1	0	4,4
1	1	1	6,7
2	0	0	5
2	0	1	7,5
2	1	0	7,6
2	1	1	10
3	0	0	8,8
3	0	1	12
3	1	0	12
3	1	1	16
4	0	0	15
4	0	1	20
4	1	0	21
4	1	1	27
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	0	96
5	1	1	240

Lampiran 2. Persyaratan Kualitas Air Minum

Tabel 4. Persyaratan Kualitas Air Minum Berdasarkan Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 907/MENKES/SK/VII/2002, Tanggal 29 Juli 2002 Dilihat Dari Aspek Bakteriologis (Anonymous, 2002).

Parameter	Satuan	Kadar Maksimum yang diperbolehkan
1	2	3
a. Air minum		
<i>E. Coli</i> atau fecal coli	Jumlah per 100 ml sampel	0
b. Air yang masuk sistem distribusi		
<i>E. coli</i> atau fecal coli	Jumlah per 100 ml sampel	0
Total bakteri koliform	Jumlah per 100 ml sampel	0
c. Air pada sistem distribusi		
<i>E. coli</i> atau fecal coli	Jumlah per 100 ml sampel	0
Total bakteri koliform	Jumlah per 100 ml sampel	0

Lampiran 3. Tabel Jumlah Perkiraan Terdekat Bakteri Coliform dan *E.coli*Tabel 5. Jumlah Perkiraan Terdekat Bakteri Coliform dan *E.coli* pada Sampel Produk Minuman Limun.

Pabrik	Sampel	Hasil LB			Hasil BGLB						Indeks MPN		Kelas
					Coliform (37°C)			<i>E.coli</i> (44°C)			Coliform	<i>E.coli</i>	
		10	1	0,1	10	1	0,1	10	1	0,1			
A	1	+++++			+++++			++++			38	15	IV
	2	++++			++++			++++			15	15	IV
	3	+			+			+			2,2	2,2	II
	4	+			+			+			2,2	2,2	II
	5	+			+			+			2,2	2,2	II
B	6	+++++	+		+++++	+		+++++	+		96	96	IV
	7	+++++	+		+++++	+		+++++	+		96	96	IV
	8	+++++	+	+	+++++	+	+	+++++	+	+	240	240	IV
	9	+++++	+	+	+++++	+	+	+++++	+	+	240	240	IV
	10	+++++	+	+	+++++	+	+	+++++	+	+	240	240	IV
C	11	++			++			++			5,0	5,0	III
	12	++++			++++			++++			15	15	IV
	13	+++++			+++++			+++++			38	38	IV
	14	+++++			+++++			+++++			38	38	IV
	15	++++			+++			+++			8,8	8,8	III

Keterangan : Kualitas I : Baik sekali / sangat memuaskan

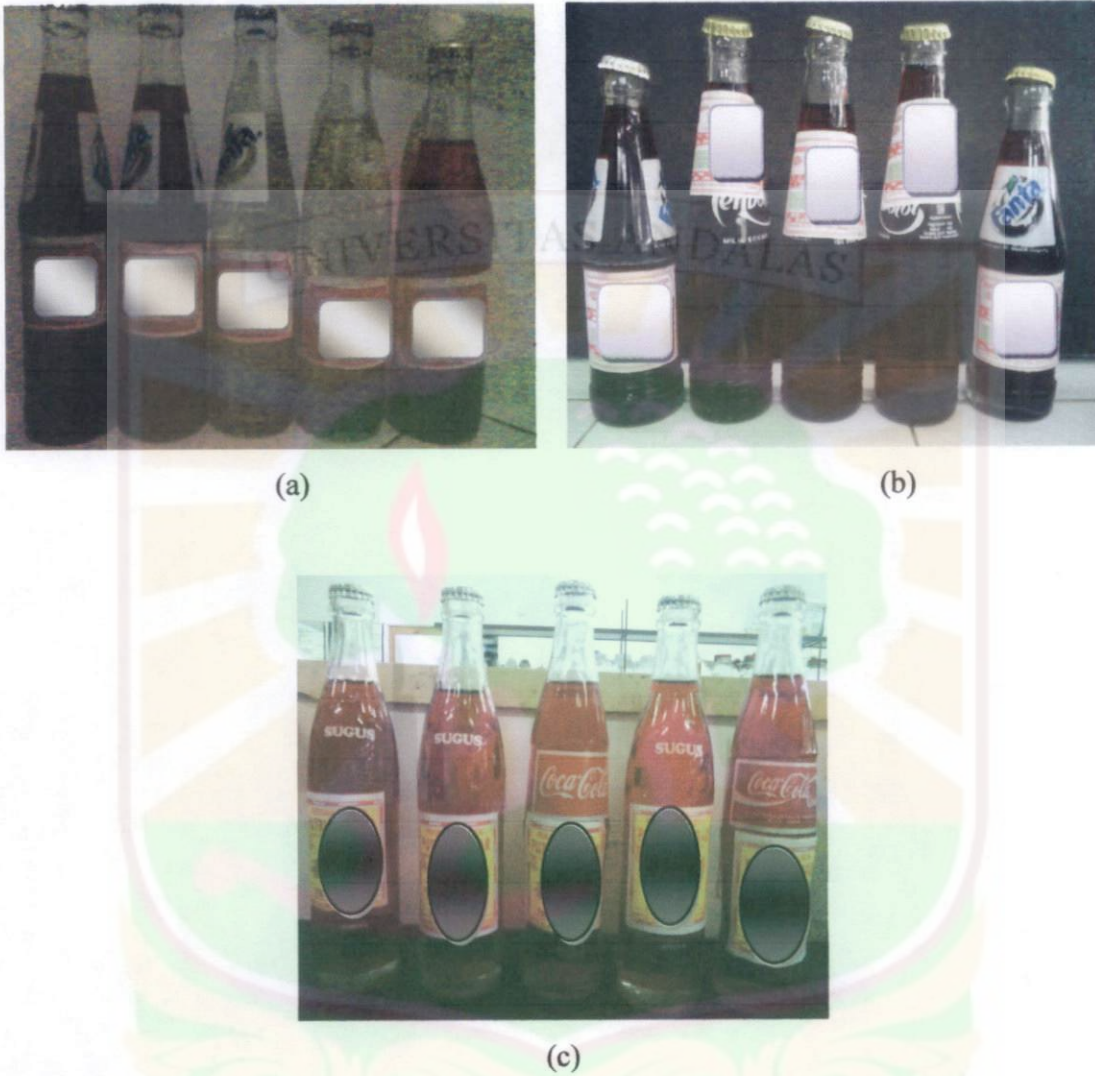
II : Memuaskan

III: Diragukan

IV: Tidak Baik/Tidak memenuhi syarat

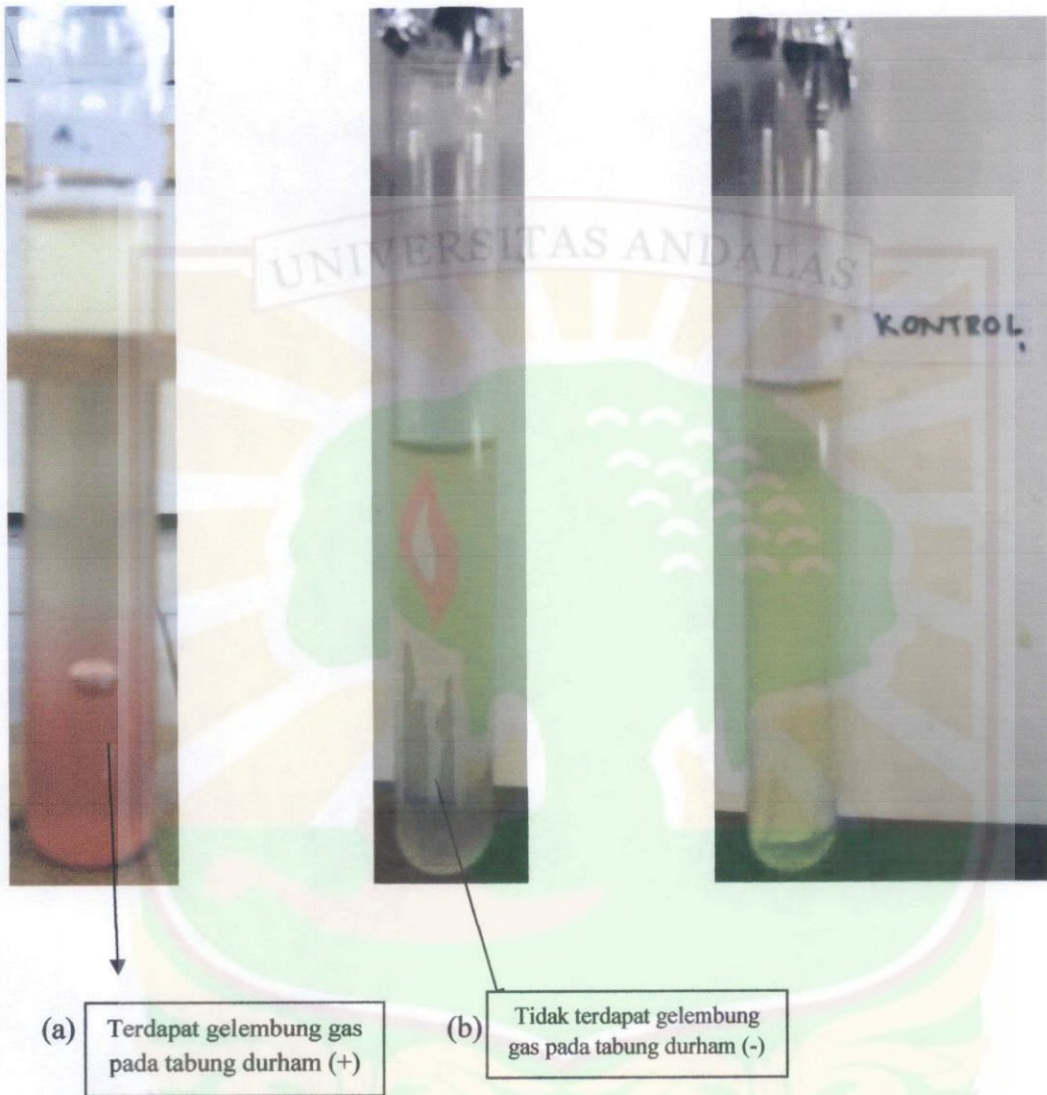
(+) : Adanya gelembung gas pada tabung

Lampiran 4. Sampel Limun yang Digunakan



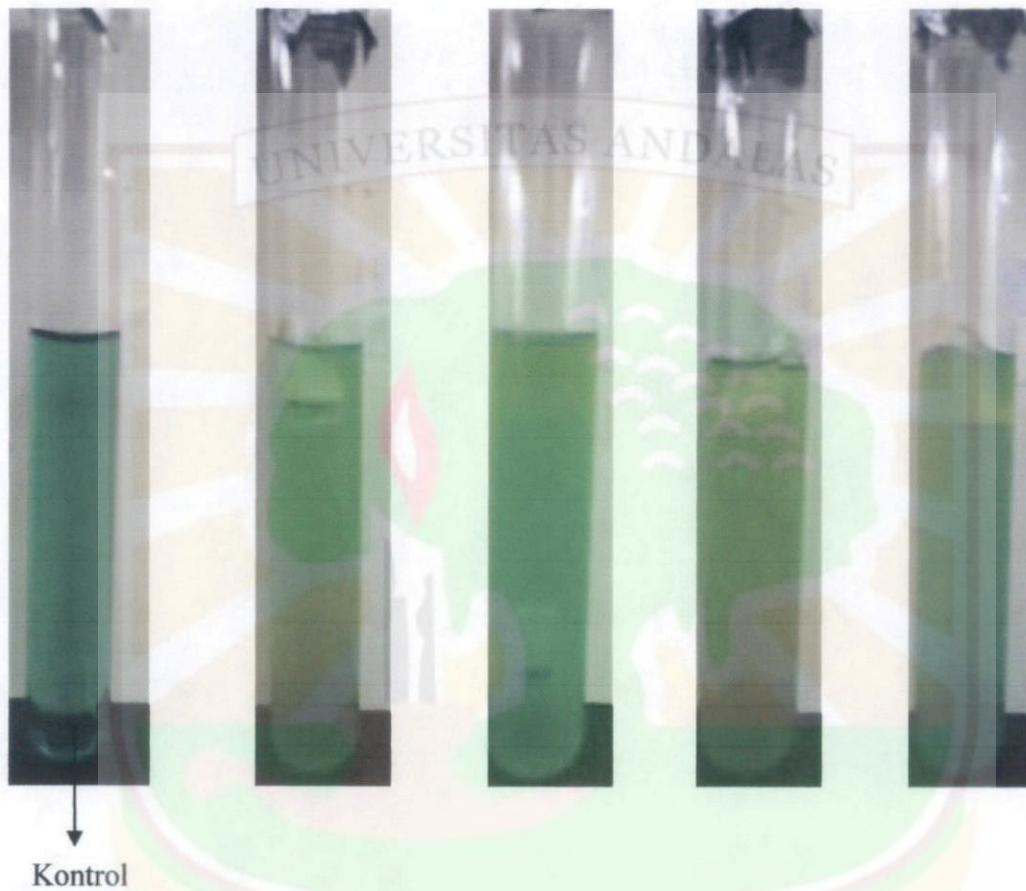
Gambar 3. Sampel Limun yang di gunakan, Limun Pabrik A (a), Limun Pabrik B (b) dan Limun Pabrik C (c).

Lampiran 6. Presumptive Test



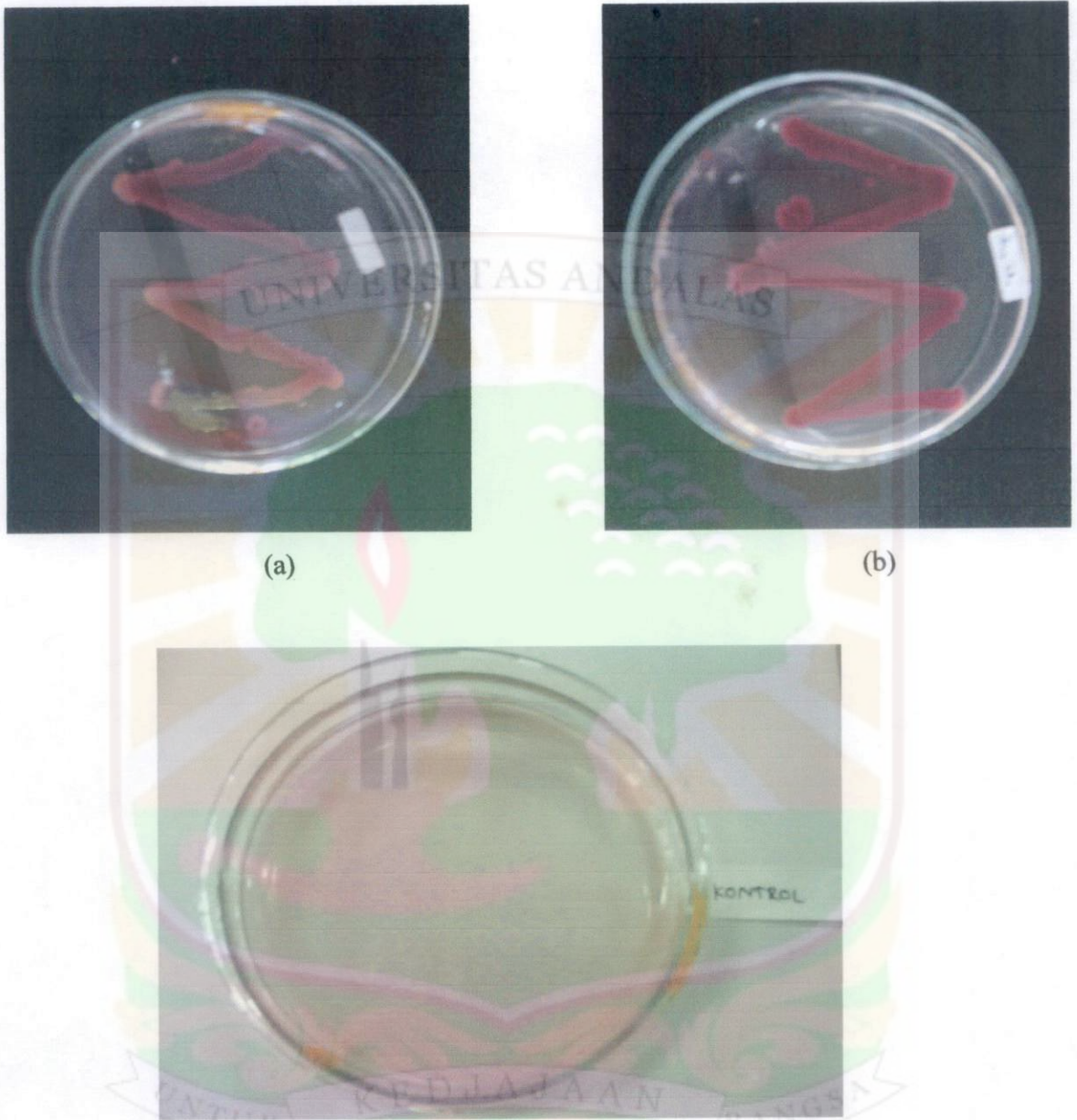
Gambar 4. Medium LB2 (a) dan medium LB1 (b).

Lampiran 7. Confirmed Test



Gambar 5. Setelah dipindahkan pada medium BGLB.

Lampiran 8. Complete Test

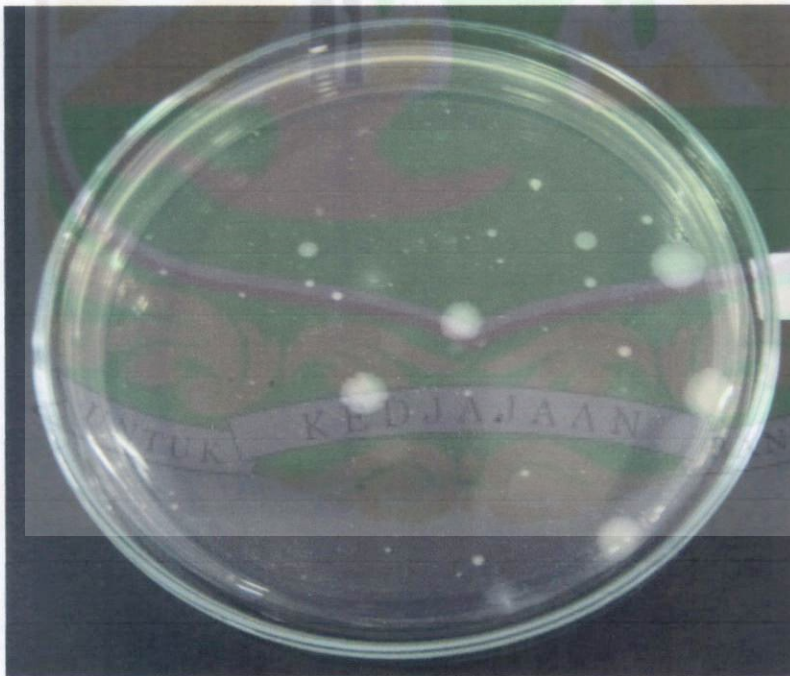


Gambar 6. Koloni bakteri *E.coli* (a) dan koloni bakteri Coliform (b) pada media Endo Agar.

Lampiran 9. Pemeriksaan Total Koloni Bakteri



Kontrol



Gambar 7. Koloni Bakteri pada Media Nutrien Agar.