



**IDENTIFIKASI MOLEKULER *Escherichia coli*  
PADA MINUMAN OLAHAN  
DI KECAMATAN GUNUNGPATI SEMARANG**

**Skripsi  
disusun sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains  
Program Studi Biologi**

**UNNES**  
oleh  
**Dita Ayu Apriliyani**  
4411411053

**JURUSAN BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG**

**2017**

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Identifikasi Molekuler *Escherichia coli* pada Minuman Olahan di Kecamatan Gunungpati Semarang” disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 30 Mei 2017



Dita Ayu Apriliyani

4411411053

**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## PENGESAHAN

Skripsi dengan judul

Identifikasi Molekuler *Escherichia coli* pada Minuman Olahan di Kecamatan Gunungpati Semarang

disusun oleh

Dita Ayu Apriliyani

4411411053

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang pada tanggal 6 Juni 2017.



Prof. Dr. Zaenuri, S.E., M.Si., Akt.  
NIP. 196412231988031001

Sekretaris

Dra. Endah Peniati, M.Si.  
NIP. 196511161991032001

Ketua Penguji

Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S.  
NIP. 19600814 1987102001

Anggota Penguji

Drs. Ibnu Mubarak, M.Sc.  
NIP.196307111991021001

Anggota Penguji/Pembimbing

Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si.  
NIP. 196007121990032001

## MOTTO

*Banyak kegagalan dalam hidup ini dikarenakan orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat mereka menyerah (Thomas Alva Edison)*

*Pendidikan merupakan perlengkapan paling baik untuk hari tua (Aristoteles)*

*Ketergesaan dalam setiap usaha membawa kegagalan (Herodotus)*



## PERSEMBAHAN

Untuk kedua orang tua saya tercinta, yang tidak pernah lelah untuk selalu mendoakan saya.

Untuk adik-adik saya Ani Angesti Swastuti dan Aulia Rahmaningsih.

Untuk teman-teman seperjuangan Biologi angkatan 2011.

Untuk sahabat-sahabat terbaikku yang selalu memberikan motivasi dan inspirasi.

Anda yang membaca skripsi saya.

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, dengan memanjatkan segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Identifikasi Molekuler *Escherichia coli* pada Minuman Olahan di Kecamatan Gunungpati Semarang”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan akademik untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Penulis menyadari bahwa proses penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karenanya, penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Semarang atas kesempatan yang diberikan untuk menempuh pendidikan di UNNES.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Negeri Semarang yang telah memberikan ijin penelitian.
3. Ketua Jurusan Biologi Universitas Negeri Semarang yang membantu kelancaran administrasi dalam penyelesaian skripsi.
4. Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si. Dosen pembimbing utama yang selalu memberikan bimbingan, nasehat, pengarahan dan masukan terbaik dengan penuh kesabaran selama proses bimbingan skripsi.
5. Drs. Ibnul Mubarak, M.Sc. Dosen pembimbing kedua yang dengan sabar memberikan bimbingan, masukan dan arahan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi.
6. Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S. Dosen penguji skripsi yang telah memberikan kritik, nasehat dan saran dalam menguji kelayakan naskah skripsi saya.
7. Dr. Lisdiana, M.Si. Dosen wali yang selalu memberikan motivasi kepada seluruh mahasiswa perwalian.
8. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi FMIPA UNNES yang telah memberi ilmu, semangat dan motivasi selama penulis menempuh perkuliahan.
9. Kepala Laboratorium dan Staf Laboratorium Jurusan Biologi atas semua pelayanan dan fasilitas untuk mahasiswa dalam menyelesaikan penelitian.

10. Kedua orang tuaku (Bapak Azis dan Ibu Alimah) tercinta serta adik-adikku tersayang Ani dan Lia yang selalu memberikan doa, dukungan, dan motivasi selama menempuh studi di Unnes.
11. Sahabat-sahabatku: Muji Astuti, Nihayatulmilah, Sri Utami, Eka Putri Sri Swatanti dan Indah Nuraini.
12. Teman-teman terdekatku yang selalu memberikan dukungan dan motivasi: Kris Yuliani, Linda Sopianan dan Tuti Wideasari.
13. Teman-teman se-angkatan (SEBICO dan BIOTEK 2011).
14. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dalam penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan. Oleh karenanya, penulis berterimakasih terhadap saran dan kritik dari pembaca yang bersifat membangun. Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan manfaat dan pengetahuan bagi para pembaca serta bagi pihak yang membutuhka

Semarang, 30 Mei 2017

Penulis

**UNNES**  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## ABSTRAK

**Apriliyani, Dita Ayu. 2017. Identifikasi Molekuler *Escherichia coli* pada Minuman Olahan di Kecamatan Gunungpati Semarang. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Prof. Dr. Ir. Amin Retnoningsih, M.Si. dan Drs. Ibnul Mubarak, M.Sc.**

Kata kunci: *Escherichia coli*, identifikasi molekuler, minuman olahan.

Minuman olahan yang dijual di sekitar SD dapat terkontaminasi *Escherichia coli*. Kontaminasi dapat terjadi saat proses pengolahan hingga penyajian kepada konsumen. Metode molekuler dapat mengidentifikasi *E. coli* secara cepat melalui amplifikasi gen spesifik pada genom *E. coli*. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi keberadaan *E. coli* dalam minuman olahan yang dijual di sekitar SD Kecamatan Gunungpati Semarang. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif observasi, dengan melakukan analisis pada pedagang minuman olahan sebagai data tambahan yang berkaitan dengan hasil amplifikasi PCR dan uji mikrobiologi. Sampel yang digunakan adalah minuman kemasan sachet, minuman cincau, minuman kelapa muda dan minuman dawet yang terdiri atas: 1) minuman olahan diberi es batu, 2) minuman olahan tanpa es batu, 3) air dan 4) es batu. Sebanyak 8 pedagang yang diteliti dimana setiap jenis minuman tersebut berasal dari 2 pedagang yang berbeda diambil secara acak. Isolasi DNA genom dengan metode CTAB, kemudian diamplifikasi menggunakan primer *16E1* dan *16E2*. Hasil PCR positif adanya *E. coli* ditunjukkan dengan adanya fragmen DNA berukuran 584 bp. Uji konfirmasi secara mikrobiologi dengan medium *Endo Agar*, hasil positif adanya *E. coli* ditunjukkan dengan warna koloni merah dan adanya kilap logam. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa identifikasi *E. coli* pada sampel minuman olahan baik dengan teknik PCR maupun uji mikrobiologi menunjukkan hasil yang sesuai yaitu sebanyak 21 dari 32 sampel positif *E. coli*.

UNNES  
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
ABSTRAK .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah .....	2
C. Penegasan Istilah .....	3
D. Tujuan Penelitian .....	3
E. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
A. Keamanan Higiene Makanan dan Minuman Olahan .....	4
B. Kontaminasi <i>Escherichia coli</i> .....	5
C. Identifikasi <i>Escherichia coli</i> .....	7
D. Teknik <i>polymerase chain reaction</i> (PCR) .....	9
E. Kerangka Berfikir .....	11
BAB III. METODE PENELITIAN .....	12
A. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	12
B. Populasi dan Sampel Penelitian .....	12
C. Rancangan Penelitian .....	12
D. Alat dan Bahan Penelitian .....	12
E. Lembar Observasi Penjual Minuman Olahan .....	14
F. Prosedur Penelitian .....	15



1. Pengambilan Sampel .....	16
2. Persiapan Sampel .....	16
3. Penyiapan Template DNA dengan Metode CTAB .....	16
4. Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA .....	17
5. Amplifikasi Template DNA dengan Teknik PCR .....	17
6. Analisis Hasil PCR dengan Elektroforensis Gel Agarose .....	17
7. Konfirmasi Hasil PCR dengan Kultur Bakteri .....	17
G. Metode Pengumpulan Data .....	18
H. Metode Analisis Data .....	18
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	19
BAB V. PENUTUP .....	39
A. Simpulan .....	39
B. Saran .....	39
DAFTAR PUSTAKA .....	40
LAMPIRAN .....	46



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil kemurnian dan konsentrasi DNA genom berdasarkan uji Kuantitatif .....	20
2. Hasil amplifikasi PCR dan medium <i>Endo Agar</i> dari sampel minuman dawet dan minuman cincau pada pedagang 1 dan 2 .....	25
3. Hasil amplifikasi PCR dan medium <i>Endo Agar</i> dari sampel minuman kelapa muda dan minuman kemasan sachet pada pedagang 3 dan 4 .....	26
4. Hasil amplifikasi PCR dan medium <i>Endo Agar</i> dari sampel minuman dawet dan minuman cincau pada pedagang 5 dan 6 .....	27
5. Hasil amplifikasi PCR dan medium <i>Endo Agar</i> dari sampel minuman kelapa muda dan minuman kemasan sachet pada pedagang 7 dan 8 .....	28
6. Hasil observasi pada pedagang minuman olahan .....	29

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Urutan nukleotida <i>E. coli</i> pada gen 16S rRNA .....	8
2. Kerangka berpikir .....	11
3. Alur penelitian .....	15
4. Hasil isolasi DNA genom dari sampel minuman olahan pada pedagang 1, 2, 3 dan 4 .....	21
5. Hasil isolasi DNA genom dari sampel minuman olahan pada pedagang 5, 6, 7 dan 8 .....	21
6. Hasil amplifikasi DNA <i>E. coli</i> dari sampel minuman olahan pada pedagang 1, 2, 3 dan 4 .....	22
7. Hasil amplifikasi DNA <i>E. coli</i> dari sampel minuman olahan pada pedagang 5, 6, 7 dan 8 .....	23



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A. Lampiran dokumentasi penelitian .....	46
B. Lampiran pembuatan media, buffer dan preaksi .....	50



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Air merupakan kebutuhan terpenting bagi makhluk hidup, khususnya manusia. Air yang dapat dikonsumsi harus memenuhi persyaratan kelayakan air minum baik dari segi fisik, kimiawi, mikrobiologi dan radioaktif (Perkemkes RI 2010). Air yang dapat dikonsumsi terlebih dahulu dimasak sampai mendidih agar terhindar dari mikroba patogen. Air yang sudah dimasak sampai mendidih dapat digunakan untuk membuat berbagai macam makanan maupun minuman. Salah satu diantaranya adalah minuman olahan seperti es sirup, es cendol, es campur, es cincau, es serut dan es buah. Minuman tersebut sering dikonsumsi oleh masyarakat terutama pada anak-anak sekolah. Hal ini karena harga minuman tersebut murah, tampilannya menarik, rasa yang enak, dan memiliki banyak variasi.

Minuman olahan yang biasa diujakan berupa minuman dingin dengan ditambahkan es batu untuk memberikan rasa segar. Es batu merupakan produk tambahan yang sering ada di dalam minuman. Masyarakat mengenal es batu sebagai air yang dibekukan (Michael *et al.* 2010). Minuman olahan yang diberi tambahan es batu diduga menjadi penyebab kontaminasi mikroba yang dapat mengganggu kesehatan tubuh. Pembuatan es batu sering menggunakan air yang tidak memenuhi persyaratan air minum dan distribusi produksinya belum ditangani secara tepat (Dewanti *et al.* 2006).

Tempat penjualan yang strategis seperti di pinggir jalan, di pasar, di emperan pusat pertokoan dan di sekolah merupakan strategi lokasi untuk menarik konsumen, namun penjualan di area terbuka dapat menjadi penyebab kontaminasi mikroba (Ismail 2013). Pedagang minuman olahan yang ada di sekitar SD Kecamatan Gunungpati Semarang umumnya menjajakan dagangannya di tempat terbuka. Pedagang tersebut menjajakan dagangannya di pinggir jalan dan terkadang membiarkan bahan makanannya terbuka sehingga memungkinkan minuman olahan

yang dijual tercemar oleh mikroba. Pencemaran juga dapat di akibatkan saat proses produksi yang dimulai dari proses pengolahan sampai penyajian ke konsumen. Pada anak usia sekolah yang mengkonsumsi jajanan yang terkontaminasi oleh mikroba patogen dapat menimbulkan berbagai macam penyakit salah satunya diare (Puspitasari 2013).

Mikroba yang biasa digunakan sebagai indikator proses sanitasi pangan adalah bakteri *Escherichia coli*. *E. coli* merupakan bakteri gram negatif. Bakteri ini berada di dalam saluran pencernaan hewan berdarah panas dan manusia, karena secara alamiah *E. coli* merupakan bakteri penghuni tubuh (Melliawati 2009). Keberadaan *E. coli* di dalam makanan dan minuman memungkinkan adanya bakteri patogen lain seperti *Salmonella*, *Staphylococcus* dan *Shigella* (Sudian 2008).

Identifikasi *E. coli* dapat dilakukan menggunakan metode konvensional secara mikrobiologis dengan mengkultur *E. coli* pada medium selektif dan uji biokimia. Pengujian *E. coli* secara mikrobiologis mempunyai kelemahan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan tenaga yang banyak dimulai dari proses mengkultur bakteri sampai uji sifat biokimia (Radji *et al.* 2010, Bintari *et al.* 2014). Metode molekuler dapat mengidentifikasi *E. coli* secara cepat menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Teknik PCR mengidentifikasi bakteri lebih sensitif, cepat dan spesifik karena target yang digunakan adalah gen spesifik pada bakteri tersebut (Shaban *et al.* 2008; Durairaj *et al.* 2014). Primer yang digunakan adalah primer *16E1* dan primer *16E2* yang di desain oleh Tsen *et al.* 1998 dirancang berdasarkan sekuens DNA yang mengkode 16S rRNA pada *E. coli* sehingga mempunyai sifat spesifik terhadap galur *E. coli* dan non *E. coli* (Radji *et al.* 2010). Oleh sebab itu, perlu adanya identifikasi *E. coli* secara molekuler pada minuman olahan agar hasil yang didapatkan lebih cepat dan akurat.

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah minuman olahan yang dijual di sekitar SD Kecamatan Gunungpati Semarang terkontaminasi bakteri *Escherichia coli* melalui identifikasi molekuler?

### **C. Penegasan Istilah**

#### 1. Minuman Olahan

Minuman olahan merupakan minuman yang diolah dengan menambahkan beberapa macam bahan tambahan makanan dan disajikan sebagai minuman siap santap (Ismail 2013). Minuman olahan dalam penelitian ini adalah minuman cincau, minuman dawet, minuman kelapa muda dan minuman kemasan sachet dimana minuman tersebut ada yang ditambahkan es batu dan ada yang tidak ditambahkan es batu serta air dan es batu yang digunakan.

#### 2. *Escherichia coli*

*E. coli* merupakan kelompok bakteri gram negatif berbentuk batang pendek merupakan flora normal yang terdapat dalam usus manusia dan hewan (Brooks *et al.* 2005a). *E. coli* yang diidentifikasi dalam penelitian ini adalah semua galur *E. coli* yang mengkontaminasi minuman olahan.

#### 3. Identifikasi Molekuler *E. coli*

DNA *E. coli* yang ada dalam sampel dapat diamplifikasi dengan teknik PCR menggunakan primer yang dirancang berdasarkan sekuens DNA yang mengkodekan 16S rRNA (Radji *et al.* 2010). Identifikasi *E. coli* pada penelitian ini secara *in vitro* menggunakan DNA yang telah diisolasi dari bakteri yang terdapat dalam sampel minuman olahan, kemudian diamplifikasi menggunakan primer *16E1* dan *16E2*.

### **D. Tujuan Penelitian**

Penelitian bertujuan mengidentifikasi adanya *E. coli* dalam minuman olahan yang dijual di sekitar SD Kecamatan Gunungpati Semarang melalui identifikasi molekuler.

### **E. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan bahwa minuman olahan yang terkontaminasi *Escherichia coli* dapat diidentifikasi secara molekuler.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Keamanan Higiene Makanan dan Minuman Olahan**

Keamanan pangan merupakan usaha yang dilakukan untuk mencegah pangan dari cemaran biologis, kimia dan benda lain yang dapat membahayakan kesehatan. Higiene dan sanitasi mempunyai hubungan yang erat dalam upaya menjaga panganan agar tetap aman dikonsumsi (BPOM 2012). Higiene lebih menitik beratkan pada usaha menjaga kebersihan individu seperti mencuci tangan dengan sabun dan air yang bersih sebelum dan sesudah menyiapkan makanan. Sanitasi lebih menitik beratkan pada usaha menjaga pangan agar aman untuk dikonsumsi mulai dari makanan sebelum diproduksi, selama proses pengolahan, penyimpanan, pengangkutan dan penjualan (Setyorini 2013).

Menurut Kepmenkes RI (2003) persyaratan higiene sanitasi makanan dan minuman olahan yang akan dijual kepada konsumen meliputi pedagang yang selalu menjaga kebersihan tubuh dan pakaiannya serta dalam kondisi sehat. Peralatan yang digunakan untuk mengolah dan menyajikan makanan dan minuman olahan harus selalu dijaga kebersihannya. Peralatan yang sudah dipakai dicuci dengan sabun dan air bersih. Pedagang dilarang menggunakan peralatan yang hanya dipakai untuk sekali pemakaian. Air yang dipakai dalam proses pembuatan makanan, minuman dan es batu harus air yang memenuhi persyaratan kualitas air minum. Bahan-bahan yang digunakan mempunyai mutu yang baik, segar dan tidak busuk. Panganan yang akan dijual harus dalam keadaan tertutup. Lokasi penjualan makanan dan minuman olahan harus jauh dari sumber pencemaran yang dapat menurunkan mutu dan kualitas dari panganan tersebut (Kepmenkes 2003).

Beberapa persyaratan kualitas air minum menurut Permenkes RI (2010) yaitu dari segi fisik air minum yang dikonsumsi sebaiknya tidak berasa, tidak berbau, tidak berwarna (maksimal 15 True Colour Unit), tidak keruh (maksimal 5 Nephelometric Turbidity Unit), suhu udara maksimal  $\pm 3$  °C dari suhu udara sekitar dan jumlah zat



padat terlarut maksimal 500mg/l. Segi mikrobiologi yaitu air minum yang aman dikonsumsi tidak terkontaminasi oleh *Escherichia coli* atau bakteri koliform lain dengan kadar 0 per 100 ml sampel. Segi kimia yaitu air minum tidak mengandung zat-zat kimia organik dan anorganik melebihi standar yang ditetapkan, pH (6,5-8,5) dan tidak mengandung zat kimia berbahaya. Segi radioaktif yaitu air minum yang dikonsumsi terhindar dari kontaminasi radiasi radioaktif melebihi batas maksimal yang diperbolehkan (Permenkes 2010).

Makanan jajanan merupakan makanan dan minuman yang diolah oleh pengrajin makanan sebagai makanan siap santap yang dijual kepada konsumen (Kepmenkes RI 2003). Salah satu makanan jajanan yang sering diujikan adalah minuman olahan diantaranya minuman es kemasan sachet, es dawet, es cincau, dan es kelapa. Minuman tersebut disajikan dengan es batu, umumnya es batu dapat dibedakan menjadi 2 jenis yaitu es batu yang dapat dikonsumsi dan yang tidak dapat dikonsumsi. Es batu yang tidak dikonsumsi digunakan untuk mendinginkan bahan makanan, sedangkan yang dikonsumsi digunakan sebagai bahan campuran dalam membuat minuman (Dewanti *et al.* 2006). Es batu yang dikonsumsi harus menggunakan air yang memenuhi persyaratan kualitas air minum agar terhindar dari bakteri patogen. Proses produksi dan lingkungan tempat produksi es batu juga menentukan kualitas dari es batu tersebut layak untuk dikonsumsi atau tidak (Lateef *et al.* 2006; Tantrakamapa *et al.* 2010). Selain bahan baku yang digunakan harus bermutu baik, minuman olahan yang tidak menerapkan praktik sanitasi dan higiene dalam proses pembuatan sampai penyajiannya berpotensi terkontaminasi mikroba patogen yang dapat mengganggu kesehatan tubuh. Salah satu bakteri yang sering digunakan sebagai indikator sanitasi makanan dan minuman adalah bakteri *Escherichia coli* (Kurniadi 2013).

## **B. Kontaminasi *Escherichia coli***

Penyebaran *E. coli* dapat terjadi melalui kegiatan tangan ke mulut atau penyebaran secara pasif yaitu melalui makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh bakteri tersebut (Melliawati 2009). Kasus kontaminasi *E. coli* pada makanan

dan minuman masih sering ditemukan. Kontaminasi *E. coli* sering ditemukan pada Panganan Jajanan Anak Sekolah (PJAS) dari 866 Sekolah Dasar/Madrasah Ibtidaiyah yang tersebar di 30 kota di Indonesia, sebanyak 4.808 PJAS didapatkan 149 (3,10%) sampel terkontaminasi *E. coli* (BPOM 2011). *E. coli* juga dapat mengkontaminasi bahan mentah dan produk olahannya seperti pada daging sapi, susu, buah dan sayuran (Djaafar & Rahayu 2007). *E. coli* dapat mengkontaminasi makanan dan minuman melalui penjamah makanan yang tidak menerapkan aspek higiene perseorangan serta kurang memperhatikan kualitas bahan makanan, proses pengolahan, penyimpanan, pengangkutan dan penyajian makanan (Yunaenah 2009). Makanan dan minuman yang terkontaminasi *E. coli* dapat menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan dan keracunan makanan dengan gejala mual/muntah, pusing dan diare (Djaja 2008).

*E. coli* mempunyai peran yang sangat penting di dalam tubuh yaitu selain penghuni tubuh (di dalam usus besar) *E. coli* menghasilkan kolisin yang dapat melindungi saluran pencernaan dari bakteri patogen. *E. coli* bersifat patogen apabila jumlah bakteri ini dalam saluran pencernaan meningkat atau berpindah dari habitat yang normal kebagian lain dalam inang. Selain itu, terdapat beberapa strain *E. coli* patogen sebab bakteri tersebut menghasilkan enterotoksin yang menyebabkan beberapa kasus diare yang diklasifikasi berdasarkan sifat karakteristik dari virulensinya. Bakteri tersebut yaitu Enteropathogenic *E. coli* (EPEC), Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC), Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC), Enteroinvasif *E. coli* (EIEC) dan Enteroagregative *E. coli* (EAEC) (Melliawati 2009; Nweze 2010). *E. coli* dapat menyebabkan infeksi salah satunya infeksi sistem saluran kencing dengan gejala jumlah frekuensi air kencing, susah buang air kencing, adanya darah dan nanah dalam urin (Brooks *et al.* 2005a).

Kontaminasi *E. coli* pada makanan dan minuman dapat dicegah dengan cara memasak makanan secara sempurna karena *E. coli* merupakan bakteri yang sensitif terhadap suhu panas. Selain itu, selalu menerapkan praktik sanitasi dan higiene perseorangan seperti menjaga kebersihan tubuh, selalu mencuci tangan saat sebelum dan sesudah mengolah makanan, menjaga kebersihan peralatan makanan, menjaga

kebersihan area tempat pengolahan makanan, menyimpan makanan dalam tempat bersih dan tertutup serta bahan makanan yang akan diolah maupun yang langsung dikonsumsi harus berkualitas baik (Yunaenah 2009).

### C. Identifikasi *Escherichia coli*

RNA ribosom (rRNA) merupakan komponen utama dalam pembentukan protein pada makhluk hidup. Molekul rRNA bersifat ubikuitus (keberadaannya selalu dipertahankan dalam kondisi apapun) dengan fungsi yang sama pada seluruh organisme. Ribosom yaitu kompleks ribonukleoprotein terdiri atas sub unit besar dan sub unit kecil. 16S rRNA merupakan bagian dari ribosom sub unit kecil, memiliki fungsi penting dalam pengenalan ujung 5'-mRNA dan memposisikan diri pada lokasi yang sesuai di dalam ribosom (Clarridge 2004).

Molekul rRNA mempunyai beberapa daerah urutan basa yang relatif konservatif dan beberapa daerah yang urutan basanya variatif. Pada daerah yang urutan basanya konservatif dapat digunakan dalam pembuatan pohon filogenetik, sebab pada daerah tersebut mengalami perubahan yang sangat lambat dan mencerminkan kronologi evolusi bumi. Pada daerah yang urutan basanya variatif digunakan untuk mencari keragaman serta menempatkan galur-galur dalam satu spesies (Pangastuti 2006).

Penanda molekuler yang paling sering digunakan adalah RNA ribosom. Pada prokariot mempunyai tiga jenis RNA ribosom yaitu 5S, 16S dan 23S rRNA. 16S rRNA paling sering digunakan sebagai penanda molekuler dibandingkan dengan 5S rRNA dan 23S rRNA. Pada 5S rRNA mempunyai urutan basa yang pendek, sehingga tidak mencukupi syarat dari segi analisis statistika. Pada 23S rRNA mempunyai struktur sekunder dan tersier yang cukup panjang sehingga sulit dalam menganalisis (Pangastuti 2006). 16S rRNA lebih stabil sehingga dapat digunakan sebagai penanda molekuler pada bakteri (Singh *et al.* 2012). Pada 16S rRNA mempunyai daerah urutan basa yang disebut *hypervariable region* yang merupakan ciri khas yang dapat membedakan setiap mikroorganisme (Gonzales & Saiz 2005; Rinanda 2011).

16S rRNA mempunyai porsi urutan yang stabil (terpelihara) dari setiap bakteri. Identifikasi secara molekuler biasa digunakan untuk mengidentifikasi suatu mikroba patogen yang sulit untuk di kembangbiakkan di dalam laboratorium. (Brooks *et al.* 2005b). Identifikasi bakteri secara molekuler dapat dilakukan dengan menganalisis gen penyandi 16S rRNA untuk mendefinisikan suatu genus maupun spesies, karena bersifat ubikuitus sehingga dapat merancang sebuah primer yang bersifat universal (Pangastuti 2006). Salah satu primer yang dirancang secara universal yaitu primer *16E1* (5'-GGG AGT AAA GTT AAT ACC TTT GCT C -3') dan primer *16E2* (5'-TTC CCG AAG GCA CAT TCT -3') yang dirancang untuk mendeteksi *Escherichia coli* baik strain *E.coli* yang patogen ataupun yang tidak patogen. Primer *16E1* merupakan nukleotida ke 452-476 di daerah V3, sedangkan primer *16E2* merupakan nukleotida ke 1018-1035 di daerah V6 (Tsen *et al.* 1998). Urutan nukleotida *E. coli* pada gen 16S rRNA dapat dilihat pada Gambar 1.

```

1 AAATTGAAGA GTTTGATCAT GGCTCAGATT GAACGCTGGC GGCAGGCCTA ACACATGCAA
61 GTCGAACGGT AACAGGAAGA AGCTTGCTCT TTGCTGACGA GTGGCGGACG GGTGAGTAAT
121 GTCTGGGAAA CTGCCTGATG GAGGGGGATA ACTACTGGAA ACGGTAGCTA ATACCGCATA
181 ACGTCGCAAG ACCAAAGAGG GGGACCTTCG GGCTCTTGC CATCGGATGT GCCCAGATGG
241 GATTAGCTAG TAGGTGGGGT AACGGCTCAC CTAGGCGACG ATCCCTAGCT GGTCTGAGAG
301 GATGACCAGC CACACTGGAA CTGAGACACG GTCCAGACTC CTACGGGAGG CAGCAGTGGG
361 GAATATTGCA CAATGGGCGC AAGCCTGATG CAGCCATGCC GCGTGTATGA AGAAGGCCTT
421 CGGGTTGTAA AGTACTTTCA GCGGGGAGGA AGGGAGTAAA GTTAATACCT TTGCTCATTG
481 ACGTTACCCG CAGAAGAAGC ACCGGCTAAC TCCGTGCCAG CAGCCGCGGT AATACGGAGG
541 GTGCAAGCGT TAATCGGAAT TACTGGGCGT AAAGCGCACG CAGGCGGTTT GTTAAGTCAG
601 ATGTGAAATC CCCGGGCTCA ACCTGGGAAC TGCATCTGAT ACTGGCAAGC TTGAGTCTCG
661 TAGAGGGGGG TAGAAATCCA GGTGTAGCGG TGAAATGCGT AGAGATCTGG AGGAATACCG
721 GTGGCGAAGG CGGCCCCCTG GACGAAGACT GACGCTCAGG TGCGAAAGCG TGGGGAGCAA
781 ACAGGATTAG ATACCCCTGGT AGTCCACGCC GTAACGATG TCGACTTGGA GGTTGTGCC
841 TTGAGGCGTG GCTTCCGGAG CTAACCGGTT AAGTCGACCG CCTGGGGAGT ACGGCCGCAA
901 GGTTAAAAC CAAATGAAT GACGGGGGCC CGCACAAGCG GTGGAGCATG TGGTTTAATT
961 CGATGCAACG CGAAGAACCT TACCTGGTCT TGACATCCAC GGAAGTTTC AGAGATGAGA
1021 ATGTGCCTTC GGGAACCGTG AGACAGGTG TGCATGGCTG TCCTCAGCTC GTGTTGTGAA
1081 ATGTTGGGTT AAGTCCCGCA ACGAGCGCAA CCCTTATCCT TTGTTGCCAG CCGTCCGGCC
1141 GGGAAC TCAA AGGAGACTGC CAGTGATAAA CTGGAGGAAG GTGGGGATGA CGTCAAGTCA
1201 TCATGGCCCT TACGACCAGG GCTACACACG TGCTACAATG GCGCATACAA AGAGAAGCGA
1261 CCTCGCGAGA GCAAGCGGAC CTCATAAAGT GCGTCGTAGT CCGGATTGGA GTCTGCAACT
1321 CACTCCATG AAGTCGGAAT CGCTAGTAAT CGTGGATCAG AATGCCACGG TGAATACGTT
1381 CCCGGGCC TT GTACACACCG CCCGTCACAC CATGGGAGTG GGTTGCAAAA GAAGTAGGTA
1441 GCTTAACCTT CGGGAGGGCG CTTACCACTT TGTGATTCAT GACTGGGGTG AAGTCGTAAC
1501 AAGGTAACCG TAGGGGAACC TGCGGTTGGA TCACCTCCTT A

```

Gambar 1. Urutan nukleotida *E. coli* pada gen 16S rRNA (NCBI 2017)

#### D. Teknik *polymerase chain reaction* (PCR)

*Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu teknik untuk perbanyakkan atau pengamplifikasian molekul DNA dengan ukuran tertentu secara enzimatik melalui mekanisme perubahan suhu (Sulandari & Syamsul 2003). Tahapan dalam PCR terdiri atas proses denaturasi. DNA mengalami denaturasi pada suhu 90-97°C (Joshi & Deshpande 2010). Suhu pada proses denaturasi dapat ditingkatkan apabila DNA *template* banyak mengandung G/C. Guanin dan cytosine (G+C) merupakan pasangan basa nitrogen yang mempunyai ikatan rangkap tiga dalam struktur *double helix* DNA, sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam menentukan suhu denaturasi (Gumilar 2006). Proses denaturasi yang tidak lengkap mengakibatkan DNA mengalami redenaturasi (membentuk kembali DNA untai ganda) dengan cepat, sehingga proses PCR mengalami kegagalan. Waktu proses denaturasi yang terlalu lama akan mengakibatkan penurunan aktifitas enzim tag polymerase (Yusuf 2010).

Proses selanjutnya yaitu annealing pada suhu 37-60°C. Pada proses tersebut primer menempel pada DNA *template* sesuai dengan sekuens komplementernya (Sudjadi 2008). Proses terakhir pada PCR yaitu proses elongasi atau extension, suhu yang dibutuhkan 72°C. Pada umumnya setelah proses PCR selesai, menambahkan post elongasi selama 5-10 menit pada suhu 72°C agar semua hasil PCR membentuk untai ganda. Ketiga tahap tersebut merupakan satu siklus thermal. Banyaknya siklus yang dilakukan tergantung pada banyaknya produk PCR yang diinginkan (Sulandari & Syamsul 2003).

Komponen yang digunakan untuk mengamplifikasikan PCR adalah primer, DNA *templat*, enzim (Taq polimerase), deoxynucleoside triphosphates (dNTP) dan buffer PCR yang mengandung magnesium klorida (MgCl<sub>2</sub>) (Yusuf 2010). Primer merupakan oligonukleotida pendek spesifik yang dirancang untuk membatasi fragmen DNA yang akan diamplifikasi (Gumilar 2006). Primer mempunyai fungsi sebagai pembatas fragmen DNA target yang akan diamplifikasi serta menyediakan gugus hidroksi (-OH) pada ujung 3' yang dibutuhkan pada proses elongasi. DNA *templat* mempunyai fungsi sebagai cetakan untuk membentuk molekul DNA baru.

DNA *templat* dapat berupa DNA kromosom, DNA plasmid atau berasal dari fragmen DNA mana saja asalkan di dalam DNA *templat* tersebut mengandung fragmen DNA target yang diinginkan (Handoyo & Ari 2001).

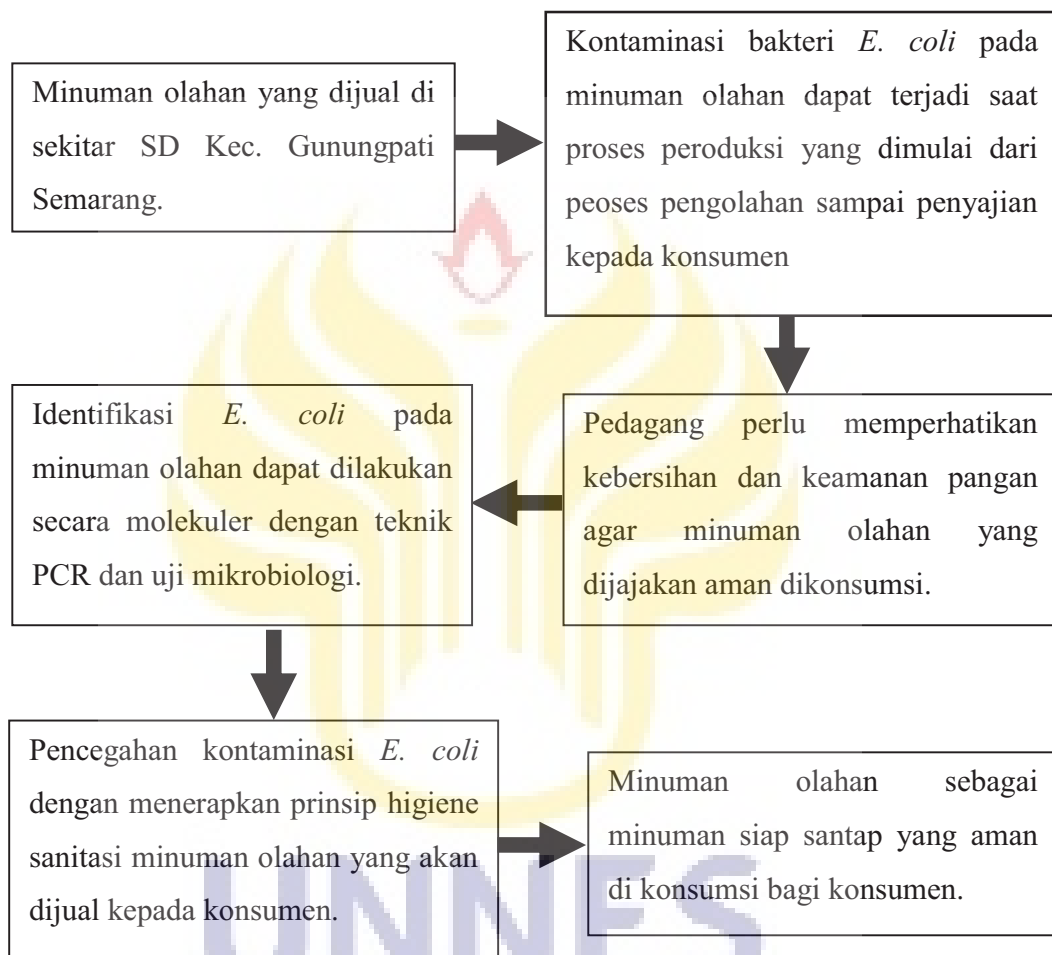
Taq polimerase merupakan enzim yang stabil pada suhu tinggi karena diisolasi dari bakteri *Thermus aquaticus* yang hidup pada sumber air panas (Sudjadi 2008). Kelebihan dari enzim taq polimerase adalah bahwa enzim ini tahan terhadap suhu tinggi yang diperlukan untuk memisahkan rantai DNA cetakan (Yuwono 2006). dNTP mempunyai fungsi sebagai building block DNA yang diperlukan pada proses elongasi. dNTP akan menempel pada gugus hidroksi pada ujung 3' dari primer membentuk untaian DNA baru yang komplementer atau sama dengan untaian DNA *templat*. Fungsi buffer PCR yaitu untuk menjamin pH medium, sedangkan  $MgCl_2$  berfungsi untuk meningkatkan aktivitas DNA polymerase (Handoyo & Ari 2001; Ari & Noer 2005).

Elektroforensis gel agarose merupakan metode standar untuk memisahkan fragmen DNA dengan ukuran yang bervariasi. Gel yang digunakan dalam proses elektroforensis yaitu agarose, yang berasal dari rumput laut (Sudjadi 2008). DNA yang sudah dielektroforensis akan divisualisasikan dengan UV transilluminatori, sehingga hasil segmen DNA yang telah diamplifikasi menggunakan PCR dapat dilihat.

Aplikasi PCR sering digunakan untuk beberapa hal salah satunya yaitu mendiagnosis beberapa penyakit seperti penyakit genetik, penyakit kanker dan penyakit infeksi serta mendiagnosis dini penyakit AIDS. PCR juga digunakan di bidang forensik sebab selain cepat dan hasil yang diperoleh lebih akurat jumlah sampel yang dibutuhkan sedikit. Selain itu, dapat mendeteksi bakteri dan virus yang sulit dikembangbiakkan atau yang bersifat patogen. Pengujian kualitas pada makanan dan minuman serta kualitas air (Joshi & Deshpande 2010; Fatchiyah 2011).

### E. Kerangka Berpikir Penelitian

Kerangka berpikir penelitian ini disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kerangka berpikir penelitian identifikasi molekuler *E. coli* pada minuman olahan di Kecamatan Gunungpati Semarang.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Simpulan**

Sampel minuman olahan yang dijual di sekitar SD Kecamatan Gunungpati Semarang terkontaminasi bakteri *Escherichia coli*. Identifikasi *E. coli* baik dengan teknik PCR dan uji konfirmasi secara mikrobiologi menggunakan *Endo Agar* menunjukkan 21 dari 32 sampel minuman olahan positif terkontaminasi *E. coli*.

#### **B. Saran**

Perlu dilakukan perhitungan jumlah bakteri *E. coli* untuk mengetahui batas kontaminasi pada sampel makanan maupun minuman berdasarkan ketentuan SNI yang telah ditetapkan.





**DAFTAR PUSTAKA**

- [NCBI] National Center For Biotechnology International <http://www.ncbi.nlm.gov/> diakses tanggal 15 Februari 2017.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia 7388. 2009. *Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan*. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Agustina F, Pambayun R & Febry F. 2009. Higiene dan Sanitasi pada Pedagang Makanan Jajanan Tradisional di Lingkungan Sekolah Dasar di Kelurahan Demang Lebar Daun Palembang Tahun 2009. *J Publikasi Ilmiah Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Sriwijaya*. 1(1): 1-10.
- Andrian G, Bambang, Fatmawali, Novel & S. Kojong. 2014. Analisis Cemaran Bakteri Coliform dan Identifikasi *Escherichia coli* pada Air Isi Ulang dari Depot Di Kota Manado. *J Ilmiah Farmasi UNSRAT*. 3(3): 325- 334.
- Anggraini R, Salim M & Mardiah E. 2013. Uji Bakteri *Escherichia coli* yang Resistan Terhadap Antibiotik Pada Ikan Kapas-Kapas di Sungai Batang Arau Padang. *J Kimia Unand*. 2(2): 17-21.
- Apriana N, Supriyanto A & Nurhariyati T. 2014. Analisis Bakteri Patogen Enterik pada Produk Es Batu yang Dipasarkan di Kota Surabaya. *J Ilmiah Biologi*. 2(2): 65-74.
- Ari MA & Noer AS. 2005. Optimasi Konsentrasi MgCl<sub>2</sub> dan Suhu *Annealing* pada Proses Amplifikasi *Multifragmens* mtDNA dengan Metoda PCR. *Artikel JKSA*. 8(1): 24-28.
- Ariefiansyah MN, Suharti N & Anas E. 2015. Identifikasi Bakteri Coliform yang Terdapat pada Minuman Es Teh di Rumah Makan Tepi Laut Purus Padang Barat. *J Kesehatan Andalas*. 4(3): 777- 780.
- Ariyani D & Anwar F. 2006. Mutu Mikrobiologis Minuman Jajanan di Sekolah Dasar Wilayah Bogor Tengah. *J Gizi dan Pangan*. 1(1): 44-50.
- Assefa T, Tasew H, Wondafrash B & Beker J. 2015. Assessment of Bacterial Hand Contamination and Associated Factors among Food Handlers Working in the Student Cafeterias of Jimma University Main Campus, Jimma, South West Ethiopia. *J Comm Med Health Educ*. 5(2): 2-8.
- Badan POM. 2012. *Cara Produksi Pangan yang Baik Untuk Industri Rumah Tangga*. Jakarta: BPOM RI.
- Badan POM. 2011. *Laporan Tahunan BPOM*. Jakarta: BPOM RI.

- Bintari SH, Fibriana F, Mustikaningtyas & Iswari RS. 2014. PCR Approach for Rapid Detection of *Escherichia coli* in Tempe Using a Specific Primer. *J Biol Researches*. (9): 54-58.
- Brooks GF, Butel JS & Morse SA. 2005a. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Buku 1*. Jakarta: Salemba Medika.
- \_\_\_\_\_. 2005b. *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology) Buku 2*. Jakarta: Salemba Medika.
- Budiono H, Harlis, Retni & Budiarti S. 2012. Analisis Ambang Batas *Escherichia coli* sebagai Indikator Pencemaran pada Daging Sapi di Rumah Pemotongan Hewan Kota Jambi. *J Biospecies*. 5(1): 14-21.
- Clarridge JE. 2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. *Clinical Microbiol Reviews*. 17(4): 840-862.
- Dahiru JY, Abubakar FA, Idris H & Abdullahi SA. 2016. Bacterial Contamination of Food Handlers at Various Restaurants in Kano State Metropolis, Kano Nigeria. *Int J Curr Microbiol and App Sci*. 5(5): 165-170.
- Desjardins P & Conklin D. 2010. NanoDrop Microvolume Quantitation of Nucleic Acids. *J Visualized Experiments*. 22(45): 1-4.
- Dewanti R, Hariyadi & Hartini US. 2006. Keberadaan dan Perilaku *Salmonella* dalam Es Batu. *Seminar Nasional PATPI*. Yogyakarta. Tanggal 2-3 Agustus 2006.
- Djaafar TF & Rahayu S. 2007. Cemaran Mikroba pada Produk Pertanian, Penyakit yang Ditimbulkan dan Pencegahannya. *J Litbang Pertanian*. 26(2): 67-75.
- Djaja. 2008. Kontaminasi *E. coli* pada Makanan dari Tiga Jenis Tempat Pengelolaan Makanan (TPM) di Jakarta Selatan 2003. *J Makara, Kesehatan*. 12(1): 36-41.
- Djajaningrat H, Mirawati M & Setiawan H. 2015. Tingkat Cemaran *Salmonella* pada Minuman Es Cappucino Cincou yang dijual di Wilayah Pondok Gede–Bekasi. *J Kesehatan*. 6(2): 160-166.
- Durairaj B, Devaki K & Muthu S. 2014. Detection of Sensitive Food Pathogens in Banana, Cold Meat and Milk by PCR Amplification Based Technique. *J Biol & Scientific Opinion*. 2(5): 292-297.
- Elfidasari D, Saraswati AM, Nufadianti G, Samiah R & Setiowati V. 2011. Perbandingan Kualitas Es di Lingkungan Universitas Al Azhar Indonesia dengan Restoran *Fast Food* di Daerah Senayan dengan Indikator Jumlah

- Escherichia coli* Terlarut. *J Al-Azhar Indonesia seri sains dan teknologi*. 1(1): 18-23.
- Fatchiyah, Arumingtyas EL, Widyarti S & Rahayu S. 2011. *Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis*. Jakarta: Erlangga.
- Fatimah S, Prasetyaningsih Y & Sari MFI. 2017. Analisis Coliform pada Minuman Es Dawet yang Dijual di Malioboro Yogyakarta. *Seminar Nasional IKAKESMADA*. Yogyakarta. Tanggal 26 Januari 2017.
- Gautam SK, Kumar SS, Batish VK, Grover S & Mohanty AK. 2011. Rapid and Sensitive Detection of *Escherichia coli* in Milk by 16S rRNA Gene Targeted PCR. *Int J Animal Biotech*. 1(1): 107-110.
- Gumilar GG. 2006. Memfotokopi DNA dengan PCR. *Artikel Pikiran Rakyat*. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Handoyo D & Rudiretna A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polymerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*. 9(1): 17-29.
- Hazar M, Salim M & Mardiah E. 2012. Keberadaan *Escherichia coli* Resisten Antibiotik pada Ikan Balang (*Pristolepis fasciata*) di Sungai Batang Arau. *J Kimia FMIPA Unand*. 1(1): 1-11.
- Ismail RA. 2013. Uji Kandungan Siklamat dan Keberadaan *Escherichia coli* pada Jajanan Minuman Olahan di Pasar Sentral Kota Gorontalo. *Skripsi*. Gorontalo: Fak. Ilmu-Ilmu Kesehatan dan Keolahragaan Universitas Negeri Gorontalo.
- Joshi M & Deshpande JD. 2010. Polymerase Chain Reaction: Methods, Principles and Application. *Int J Biomedical Research*. 1(5): 81-97.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 942/Menkes/SK/VII/2003 tentang Pedoman Persyaratan Higiene Sanitasi Makanan Jajanan. Depkes RI.
- Khosravinia H, Murthy HNN, Parasad DT & Pirany N. 2007. Optimizing Factors Influencing DNA Extraction from Fresh Whole Avian Blood. *African J Biotech*. 6(4): 481-486.
- Kurniadi *et al.*, 2013. Faktor Kontaminasi Bakteri *E. coli* pada Makanan Jajanan dilingkungan Kantin Sekolah Dasar Wilayah Kecamatan Bangkinang. *J Ilmu Lingkungan*. 7(1): 28-37.
- Lateef A, Oloke JK, Kana EBG & Pacheco E. 2006. The Microbiological Quality of Ice Used to Cool Drinks and Foods in Ogbomoso Metropolis, Southwest, Nigeria. *J Food Safety*. 8: 39-43.

- Maheux AF, Picard FJ, Boissinot M, Bissonnette L, Paradis S & Bergeron MG. 2009. Analytical Comparison of Nine PCR Primer Sets Designed to Detect The Presence of *Escherichia coli/Shigella* in Water Samples. *J WATER RESEARCH*. 4(3) 3019-3028.
- Mamun MA, Rahman SM & Turin TC. 2013. Microbiological Quality of Selected Street Food Items Vended by School-Based Street Food Vendors in Dhaka, Bangladesh. *Int J Food Microbiol*. 166(3): 413-418.
- Melliawati R. 2009. *Escherichia coli* dalam Kehidupan Manusia. *BioTrends*. 4(1): 10-14.
- Michael, Onggowidjaja P & Rusmana D. 2010. Bakteri Coliform dalam Es Batu pada Tiga Rumah Makan Ayam Goreng Siap Saji di Bandung. *JKM*. 9(2): 124-128.
- Mulyani Y, Purwanto A & Nurruhwati I. 2011. Perbandingan Beberapa Metode Isolasi DNA untuk Deteksi Dini *Koi Herpes Virus* (KHV) pada Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L.). *J Akuatika*. 11(1): 1-15.
- Nweze EI. 2010. Aetiology of Diarrhoea and Virulence Properties of Diarrhoeagenic *Escherichia coli* among Patients and Healthy Subjects in Southeast Nigeria. *J HEALTH POPUL NUTR*. 28(3): 245-252.
- Pangastuti A. 2006. Definisi Spesies Prokaryota Berdasarkan Urutan Basa Gen Penyandi 16s rRNA dan Gen Penyandi Protein. *Biodiversitas*. 7(3): 292-296.
- Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/IV/2010 Tentang Persyaratan Kualitas Air Minum. Departemen Kesehatan RI.
- Pranawaty RN, Buwono ID & Liviawaty E. 2012. Aplikasi Polimerase Chain Reaction (PCR) Konvensional dan Real Time PCR Deteksi White Spot Syndrome Virus pada Kepiting. *J Perikanan dan Kelautan*. 3(4): 61-74.
- Purba KRB, Santi DN & Ashar T. 2015. Analisis Higiene Sanitasi Pengolahan dan Pemeriksaan Bakteri *E. coli* pada Minuman Air Kelapa Muda yang dijual di Kelurahan Lauchi Kecamatan Medan Tuntungan Medan Tahun 2013. *J Lingkungan dan Kesehatan Kerja*. 3(3): 1-10.
- Puryana S, Agustini NP, A A, Kusumajaya N. 2015. Cemaran Mikroba *E.coli* pada Es Daluman yang Dijual di Kota Denpasar. *J Skala Husada*. 12(1): 79-84.
- Puspita I, Palandeng H & Sinolungan J. 2014. Hubungan Praktik Higiene Sanitasi Penjamah Makanan Terhadap Cemaran *Escherichia coli* pada Makanan Gado-Gado di Sepanjang Jalan Kota Manado. *J FKM UNSRAT*. 1(1): 1-9.

- Puspitasari RL. 2013. Kualitas Jajanan Siswa di Sekolah Dasar. *J Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*. 2(1): 52-56.
- Radji M, Puspaningrum A & Sumiati A. 2010. Deteksi Cepat Bakteri *Escherichia coli* dalam Sampel Air dengan Metode Polymerase Chain Reaction Menggunakan Primer 16E1 dan 16E2. *J Makara, Sains*. 14(1): 39-43.
- Rane S. 2011. Street Vended Food in Developing World: Hazard Analyses. *Indian J Microbiol*. 51(1): 100-106.
- Rawal I, Joshi H & Chaudhary BL. 2013. Molecular Identification of *Escherichia coli* Isolated from Lakes of Udaipur (Raj), India. *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.* 15(1): 129-131.
- Rifta R, Budiyo & Darundiati YH. 2016. Studi Identifikasi Keberadaan *Escherichia coli* pada Es Batu yang Digunakan oleh Pedagang Warung Makan di Tembalang. *J Kesehatan Masyarakat*. 4(2): 176-185.
- Rinanda T. 2011. Analisis Sekuensing 16S rRNA di Bidang Mikrobiologi. *J KEDOKTERAN SYIAH KUALA*. 11(3): 172-177.
- Sari R & Apridamayanti P. 2014. Cemaran Bakteri *Escherichia coli* dalam Beberapa Makanan Laut yang Beredar di Pasar Tradisional Kota Pontianak. *KARTIKA J Ilmiah Farmasi*. 2(2): 14-19.
- Selian LS, Warganegara E & Apriliana E. 2014. Uji *Most Probable Number* (MPN) dan Deteksi Bakteri Koliform dalam Minuman Jajanan yang dijual di Sekolah Dasar Kecamatan Sukabumi Kota Bandar Lampung. *J Majority*. 3(2): 126-134.
- Setyorini E. 2013. Hubungan Praktek Higiene Pedagang dengan Keberadaan *Escherichia coli* pada Rujak yang diJual di Sekitar Kampus Universits Negeri Semarang. *Unnes J Public Health*. 2(3): 1-8.
- Shaban, A.M., Haroun B.M. & Elras M.A. 2008. Comparison between Conventional Membrane Filter and PCR Methods for Detection of Coliform, *E. coli* and *Salmonella* in Drinking Water. *J App Sci Research*. 4(12): 1769-1776.
- Singh V, Chaudhary DK & Mani I. 2011. Molecular Characterization and Modeling of Secondary Structure of 16S rRNA from *Aeromonas Veronii*. *IJABPT*. 3(1): 253-260.
- Skutkova H, Vitek M, Krizkova S, Kizek R & Provaznik I. (2013). Preprocessing and Classification of Electrophoresis Gel Images Using Dynamic Time Warping. *Int J Electrochem Sci*. 8(2): 1609-1622.
- Sudian S. 2008. Pengujian Mikrobiologi Pangan. *Badan POM RI*. 9(2): 1-9.
- Sudjadi. 2008. *Bioteknologi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.

- Sulandari S & M. Syamsul AZ. 2003. *Panduan Praktis Laboratorium DNA*. Bogor: Bidang Zoologi Pusat Penelitian Bidang Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Sulistyaningsih E. 2007. Polymerase Chain Reaction (PCR): Era Baru Diagnosis dan Manajemen Penyakit Infeksi. *Biomedis*. 1(1): 17-25.
- Sunandar D & Imron. 2010. Optimalisasi Templat DNA Genom Udang Galah, *Macrobrachium rosenbergii* dalam Proses PCR-RAPD. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*. Subang.
- Tantrakamapa K, Makkaew P & Vatanasomboon P. 2010. Association of Sanitary Conditions and Bacteriological Quality of Tube Ice in Ice Plants in Metropolitan Bangkok, Thailand. *J Env Asia*. 3(1): 8-12.
- Tsen HY, Lin CK & Chi WR. 1998. Development and Used of 16 s rRNA Gene Targeted PCR Primer for The Identification of *Escherichia coli* Cells in Water. *J App Microbiol*. 85: 554-560.
- Tumelap HJ. 2011. Kondisi Bakteriologik Peralatan Makan di Rumah Makan Jombang Tikala Manado. *J Kesehatan Lingkungan*. 1(1): 20-27.
- Uslan & Pharmawati M. 2015. Optimasi Konsentrasi DNA dan MgCl<sub>2</sub> pada Reaksi *Polymerase Chain Reaction-Random Amplified Polymorphic DNA* untuk Analisis Keragaman Genetik Tanaman Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br). *J BIOSLOGOS*. 5(1): 26-34.
- Utami A, Meryalita R, Prihatin NA, Ambarsari L & Asri P. 2012. Variasi Metode Isolasi DNA Daun Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) *Prosiding Seminar Nasional Kimia Unesa*. Surabaya. Tanggal 25 Februari 2012.
- Yusuf ZK. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Saintek*. 5(6): 1-6.
- Yuwono T. 2006. *Teori dan Aplikasi Polymerase Chain Reaction*. Yogyakarta: ANDI.
- Yunaenah. 2009. Kontaminasi *E. coli* pada Makanan Jajanan di Kantin Sekolah Dasar Wilayah Jakarta Pusat. *Tesis*. Mahasiswa FKM UI. Depok.