



**DETEKSI *Escherichia coli* O157**  
**PADA BERBAGAI AIR MINUM**  
**DI KELURAHAN SEKARAN GUNUNGPATI SEMARANG**

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

oleh  
Devi Dwi Jayanti  
4411413002

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

**2018**

## PERNYATAAN

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul "*Deteksi Escherichia coli O157 pada Berbagai Air Minum di Kelurahan Sekaran Gunungpati Semarang*" disusun berdasarkan hasil penelitian saya dengan arahan dosen pembimbing. Sumber informasi atau kutipan yang dikutip dari karya yang diterbitkan telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan pada bagian daftar Pustaka. Skripsi ini belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar dalam program sejenis di perguruan tinggi manapun.

Semarang, 8 Desember 2017



Devi Dwi Jayanti

4411413002

## PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Deteksi *Escherichia coli* O157 pada Berbagai Air Minum di Kelurahan  
Sekaran, Gunungpati, Semarang

disusun oleh

Devi Dwi Jayanti

4411413002

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA UNNES pada  
tanggal 15 Desember 2017

Panitia:



Sekretaris




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

Penguji Utama




Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S.  
NIP. 196008141987102001

Anggota penguji I/  
Pembimbing I



Dr. drh. R. Susanti, M.P.  
NIP. 196903231997032001

Anggota Penguji II/  
Pembimbing II



Dr. Ari Yuniastuti, S.Pt., M.Kes.  
NIP. 1968060219980320

## **MOTTO**

Katakanlah: sesungguhnya sembahyangku, ibadahku, hidupku dan matiku hanyalah untuk Allah, Tuhan semesta alam.

(QS. Al-An'am 6 : 162)

## **PERSEMBAHAN**

Untuk Ibu, Bapak, Guru-guru, Kakak,  
Adik, dan Teman-teman Biologi 2013

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya, sehingga saya diberikan kemudahan dalam menyelesaikan skripsi dengan judul “Deteksi *Escherichia coli* O157 pada Berbagai Air Minum di Kelurahan Sekaran, Gunungpati, Semarang” sebagai syarat sarjana Sains pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini, saya telah banyak menerima bantuan, kerjasama dan sumbangan pikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini saya sampaikan ucapan terima kasih kepada

1. Rektor Universitas Negeri Semarang.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
3. Ketua Jurusan Biologi Program Strata I (S1) Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
4. Ibu Dr. drh. R. Susanti, M.P. sebagai Dosen pembimbing pertama yang telah memberikan ilmu, petunjuk, arahan, nasehat, dan bimbingan pada penulis.
5. Ibu Dr. Ari Yuniastuti, S.Pt, M.Kes. Dosen pembimbing kedua yang telah memberikan petunjuk, arahan, nasehat dan bimbingan pada penulis.
6. Bapak Dr. drh. I Wayan Suardana, M.Kes Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana Denpasar Bali yang telah memberikan ilmu, petunjuk, arahan, nasehat, dan bimbingan pada penulis.
7. Ibu Dr. dr. Nugrahaningsih W.H, M.Kes Dosen Wali Prodi Biologi Angkatan tahun 2013 Universitas Negeri Semarang.
8. Ibu Dr. Dra. Siti Harnina Bintari, M.S. Dosen penguji yang telah memberikan evaluasi, penilaian, masukan serta petunjuk untuk kelancaran penelitian dan skripsi ini.
9. Ibu, Bapak, kakak, adik dan teman-teman Biologi 2013 yang telah memberikan doa, semangat, motivasi serta dukungan demi kelancaran skripsi.
10. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Hanya ucapan terimakasih dan doa, semoga apa yang telah diberikan menjadi amal baik dan mendapat balasan dari Allah SWT. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca.

Semarang, 8 Desember 2017

Devi Dwi Jayanti

## ABSTRAK

Jayanti, DD. 2017. *Deteksi Escherichia coli O157 pada Berbagai Air Minum di Kelurahan Sekaran, Gunungpati, Semarang*. Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Dr.drh. R. Susanti, M.P, Dr. Ari Yuniastuti, S.Pt, M.Kes. dan Dr. drh. I Wayan Suardana, M.Kes.

Kata kunci: air isi ulang, air kemasan, air sumur, *Escherichia coli* O157, *rfbE*

Penelitian bertujuan untuk mendeteksi adanya bakteri *Escherichia coli* O157 pada air kemasan, air isi ulang, dan air sumur di Kelurahan Sekaran Gunungpati Semarang. Sampel yang diambil sebanyak 20 sampel yang terdiri dari 4 merk air minum kemasan, 8 sampel air minum isi ulang, dan 8 sampel air sumur. Penelitian diawali dengan tahap isolasi *E.coli* pada medium *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), yang dilanjutkan ke medium *Sorbitol Mac Conkey Agar* (SMAC) untuk identifikasi *E.coli* O157 dilanjutkan uji lateks aglutinasi (OXOID) dan diakhiri dengan uji konfirmasi molekuler menggunakan teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) terhadap gen *rfbE*. Hasil penelitian menunjukkan 8 sampel dari 20 sampel air minum (40%) positif *E.coli* pada medium SMAC menunjukkan positif *E.coli* O157 (*colorless*). Uji lateks aglutinasi juga menunjukkan 8 sampel positif *E.coli* O157 seperti kontrol ATCC 43894. Delapan sampel positif *E.coli* O157 tersebut 4 sampel (20%) merupakan air sumur, dan 4 (20%) sampel air isi ulang.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN .....	iv
PRAKATA .....	v
ABSTRAK .....	vii
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB 1 PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar belakang .....	1
1.2 Rumusan masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	4
1.4 Manfaat Penelitian .....	4
1.5 Penegasan Istilah .....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....	6
2.1 <i>Escherichia coli</i> serotype O157 .....	6
2.2 Deteksi <i>E.coli</i> O157 .....	11
2.3 Air Minum .....	13
2.4 Kerangka Berpikir .....	16
BAB 3 METODE PENELITIAN .....	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian .....	17
3.2 Alat dan Bahan .....	17
3.3 Rancangan Penelitian .....	18
3.3.1 Populasi dan Sampel .....	19
3.3.2 Prosedur Penelitian .....	19
3.3.2.1 Pengambilan Sampel Air .....	19
3.3.2.2 Identifikasi <i>E.coli</i> O157 dengan Media SMAC .....	19



3.3.2.3 Isolasi DNA Bakteri .....	20
3.3.2.4 Pengukuran Konsentrasi dan Kemurnian DNA .....	20
3.3.2.5 Amplifikasi DNA dengan PCR .....	21
3.3.2.6 Deteksi Produk PCR / Elektroforesis .....	21
3.4 Analisis Data .....	21
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>22</b>
4.1 Hasil Penelitian .....	22
4.1.1 Identifikasi <i>E.coli</i> O157 dengan Media SMAC .....	22
4.1.2 Hasil Uji Kuantitatif dan Kualitatif Kemurnian Konsentrasi DNA ..	25
4.1.3 Konfirmasi Molekuler dengan Metode PCR .....	26
4.2 Pembahasan .....	27
4.2.1 Deteksi <i>E.coli</i> O157 dengan Media SMAC .....	27
4.2.2 Konfirmasi Molekuler <i>E.coli</i> O157 dengan Gen Target <i>rfbE</i> .....	29
<b>BAB 5 PENUTUP .....</b>	<b>33</b>
5.1 Simpulan .....	33
5.2 Saran .....	33
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>41</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Virotype <i>Escherichia coli</i> (Odonkor & Ampofo 2013) .....	7
2. Baku Mutu Air Minum (Menteri Kesehatan RI 2002) .....	13
3. Alat-alat Penelitian .....	18
4. Bahan-bahan Penelitian .....	19
5. Hasil identifikasi <i>E.coli</i> O157 .....	25
6. Hasil uji kemurnian dan konsentrasi DNA .....	26
7. Primer gen <i>rfbE</i> pada berbagai penelitian .....	30

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. TEM <i>E. coli</i> O157 (Todar 2005) .....	8
2. SEM <i>E. coli</i> O157:H7 (Liu 2009) .....	8
3. Diagram Transmisi <i>E. coli</i> O157:H7 .....	10
4. Kerangka berpikir penelitian tentang deteksi <i>E. coli</i> O157 pada berbagai air minum di Kelurahan Sekaran Gunungpati Semarang .....	16
5. Hasil kultur <i>E. coli</i> pada media EMBA .....	22
6. Koloni <i>E. coli</i> O157 pada media SMAC .....	23
7. Hasil uji O157 latex agglutination test dari isolat <i>E. coli</i> O157 .....	24
8. Hasil pewarnaan Gram isolat <i>E. coli</i> O157 .....	24
9. Elektroforegram hasil isolasi DNA sampel air minum .....	26
10. Elektroforegram hasil PCR menggunakan primer gen <i>rfbE</i> .....	27

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Persyaratan produk air minum standar nasional dan internasional .....	40
2. Karakteristik <i>Escherichia coli</i> O157:H7 .....	41
3. Estimasi Dosis Infeksius Bakteri yang Berhubungan dengan Diare .....	42
4. Alur penelitian .....	43
5. Pembuatan media NB, EMBA, NA dan SMAC .....	44
6. Prosedur pewarnaan Gram .....	47

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Air merupakan materi yang sangat penting dalam kehidupan tumbuhan, hewan, dan manusia. Kebutuhan air bersih terutama air minum semakin lama semakin meningkat seiring keperluan dan taraf kehidupan penduduk. Industri air minum kemasan berkembang pesat di Indonesia, semakin banyaknya minat masyarakat terhadap air minum kemasan mendorong pertumbuhan industri air minum. Hal itu ditandai dengan banyaknya merk air minum kemasan buatan Indonesia yang ada di pasaran. Konsumen lebih memilih air minum kemasan karena dianggap memiliki kualitas dan mutu lebih baik dibandingkan air minum isi ulang. Harga air minum kemasan relatif tinggi dibandingkan air minum isi ulang, tetapi daya beli masyarakat pada air minum kemasan tetap tinggi. Hal ini terbukti dalam kurun waktu sepuluh tahun, produk air minum dalam kemasan buatan Indonesia berkembang pesat (Waluyo 2009).

Air minum isi ulang juga berkembang pesat, karena harga air minum isi ulang yang relatif murah dibandingkan dengan air minum kemasan. Harga air minum isi ulang lebih murah, karena untuk membuka Depo Air Minum Isi Ulang (DAMIU) tidak diperlukan biaya pengemasan dan pengiriman, selain itu tidak dibutuhkan modal yang besar untuk membuka usaha ini (Kandou 2009). Air minum isi ulang relatif murah, efisien, mudah diperoleh sehingga banyak masyarakat yang lebih memilih air minum isi ulang.

Produk air minum kemasan dan isi ulang di Indonesia berkembang pesat sehingga menimbulkan permasalahan tentang mutu dan kualitas air minum yang aman untuk dikonsumsi. Hasil penelitian Kandou (2009) menyebutkan bahwa 8,33% sampel air minum kemasan dan 25% air minum isi ulang di Makassar terkontaminasi *Escherichia coli* O157:H7. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Wandrivel *et al.* (2012) di Kecamatan Bungus Padang menunjukkan

bahwa 55,6% depo air minum menghasilkan air minum dengan kualitas yang tidak memenuhi persyaratan mikrobiologi yang ditetapkan pemerintah.

Air yang layak diminum harus memenuhi tiga persyaratan kelayakan dari segi fisik, kimia dan mikrobiologis. Syarat air minum harus aman diminum artinya bebas mikroba patogen dan zat berbahaya serta diterima dari segi warna, rasa, bau dan kekeruhannya (Soemirat 2004). Natalia *et al.* (2014) mengungkapkan bahwa uji kualitas bakteriologis air minum isi ulang dapat dilakukan dengan melihat ada tidaknya kontaminasi bakteri dalam air minum tersebut. Syarat bakteriologis air minum menurut peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 907/Menkes/SK/VII/2002, air minum tidak boleh mengandung bakteri patogen, yang dapat menyebabkan penyakit terutama penyakit saluran pencernaan, yaitu bakteri koliform. Standar kandungan bakteri koliform dalam air minum 0 per 100 ml. Kontaminasi bakteri koliform kemungkinan dapat disebabkan pencemaran pada air baku, jenis peralatan yang digunakan, kurangnya pengetahuan tentang higienitas dan sanitasi DAMIU (Indirawati 2009).

*Escherichia coli* (*E.coli*) pada produk air minum merupakan indikasi adanya kontaminasi (Odonkor & Ampofo 2013). Salah satu bakteri koliform yang patogen adalah bakteri *E.coli* O157. *E. coli* O157 adalah patogen yang menyebabkan penyakit serius pada manusia. *E. coli* O157 dapat beradaptasi dan bertahan di bawah kondisi rata-rata lingkungan termasuk perubahan suhu, pH rendah dan pengeringan (Armstrong *et al.* 1996; Iijima *et al.* 1996).

Metode yang umum digunakan untuk pengujian air minum secara mikrobiologis adalah dengan menghitung jumlah bakteri koliform secara kuantitatif dan kualitatif. Menurut Odonkor & Ampofo (2013), beberapa metode yang digunakan untuk mendeteksi *E.coli* O157 adalah teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*), ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) yang memanfaatkan antibodi monoklonal (4E8C12) spesifik untuk membran protein *E.coli* O157 dan medium agar Sorbitol MacConkay (SMAC) yang digunakan untuk isolasi *E.coli* O157.

Metode kultur adalah metode yang sederhana yang dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi *E.coli* O157. Koloni *E.coli* yang diidentifikasi sebagai *E.coli* O157 dicirikan dengan koloni jernih, tidak berwarna (colourless), atau bersifat sorbitol negatif (Bridson 1998). Selain dilakukan metode kultur, dilakukan metode PCR sebagai konfirmasi molekuler. Konfirmasi molekuler perlu dilakukan untuk memastikan hasil kultur dan sebagai pembanding.

Prinsip dasar metode PCR adalah penggandaan atau amplifikasi DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam satu *thermocycler* (Yuwono 2006). Keuntungan utama dari metode PCR lebih spesifik, sensitif dan cepat daripada metode mikrobiologi konvensional (Bintari *et al.* 2014). Gen target untuk deteksi spesifik dengan teknik PCR biasanya terkait dengan faktor virulensi dari patogen. Gen target untuk *E.coli* O157 adalah gen *rfbE* untuk biosintesis antigen O, gen terkait dengan glukoronidase (gen *uidA*), gen terkait dengan verotoksin (gen *Shigalike toxins*, *stx1* dan *stx2*) dan gen yang terkait dengan protein yang berperan dalam perlekatan (gen *eaeA*) (Sharma *et al.* 2006; Franz *et al.* 2007; Suardana *et al.* 2010).

Penelitian ini dilakukan untuk pengujian kualitas air minum kemasan, isi ulang, dan air sumur secara mikrobiologis menggunakan teknik kultur dengan medium SMAC dan teknik PCR dengan menganalisis keberadaan bakteri *E. coli* O157. Sebagai gen target adalah *rfbE* dengan posisi sekuens gen pada strand 5' 7441-7680 3', ukuran produk PCR adalah 239 bp (Morin *et al.* 2004). Gen *rfbE* telah diidentifikasi sebagai penanda (*marker*) yang baik karena diturunkan pada semua fase pertumbuhan (*growth phases*) dari fase eksponensial awal sampai fase stasioner akhir. Gen *rfbE* merupakan gen target yang baik untuk mendeteksi kehadiran dari bakteri *E.coli* O157 dalam sampel (Yaron & Matthews 2002; Liu *et al.* 2006).

Kelurahan Sekaran, Gunungpati, Semarang dipilih sebagai lokasi pengambilan sampel berbagai air minum. Data dari Puskesmas Sekaran pada tahun 2008-2016, kasus diare paling banyak terdapat di Kelurahan Sekaran,

dibandingkan Kelurahan Ngijo, Patemon, Kalisegoro, dan Sukorejo. Pada tahun 2016 terdapat satu kasus diare berdarah di Kelurahan Sekaran. Diharapkan pada penelitian ini menjadi sumber informasi bagi masyarakat tentang kualitas air minum kemasan, isi ulang dan air sumur, di Kelurahan Sekaran, Gunungpati, Semarang serta diharapkan pula masyarakat dapat lebih selektif untuk memilih air minum yang dikonsumsi.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Apakah bakteri *E.coli* O157 terdapat pada air minum kemasan, air minum isi ulang, dan air sumur di Kelurahan Sekaran, Gunungpati, Semarang melalui metode kultur dan PCR?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Mendeteksi adanya bakteri *E.coli* O157 pada air minum kemasan, isi ulang, dan air sumur di Kelurahan Sekaran, Gunungpati, Semarang melalui metode kultur dan PCR.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Sebagai Informasi untuk masyarakat tentang kualitas air minum yang layak dikonsumsi.
2. Diharapkan masyarakat lebih selektif dalam memilih air minum yang layak dikonsumsi.

## **1.5 Penegasan Istilah**

1. Deteksi

Menemukan ada tidaknya bakteri *E.coli* O157 pada berbagai sampel air minum dengan metode kultur dan PCR.

2. *Escherichia coli* O157

*E.coli* O157 merupakan satu dari ratusan strain bakteri *E. coli* yang patogen, menghasilkan toksin yang sangat kuat dan dapat menyebabkan beragam



penyakit pada manusia diantaranya *Hemorrhagic Colitis* yaitu peradangan pada usus besar yang mengakibatkan pendarahan dan penyakit *Hemolytic Uremic Syndrome (HUS)* yang mengakibatkan gagal ginjal dan anemia (Willshaw 1994; Armstrong *et al.* 1996; Iijima *et al.* 1996).

### 3. Berbagai Air Minum di Kelurahan Sekaran

Sampel air minum yang diambil adalah air minum kemasan, air minum isi ulang dan air sumur di Kelurahan Sekaran, Kecamatan Gunungpati Semarang.

### 4. Metode Kultur

Metode kultur yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan medium agar SMAC.

### 5. Metode PCR

Penggandaan atau amplifikasi DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target tersebut dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam satu *thermocycler* (Yuwono 2006). Sebagai gen target adalah *rfbE* dengan posisi sekuens gen pada strand 5' 7441-7680 3' , ukuran produk PCR adalah 239 bp (Morin *et al.* 2004). Metode PCR dilakukan sebagai konfirmasi molekuler.

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 *Escherichia coli* O157**

Bakteri koliform merupakan suatu kelompok bakteri yang sering digunakan sebagai indikator adanya kotoran dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air dan makanan sehingga tidak layak untuk dikonsumsi. Karakteristik dari bakteri koliform (famili Enterobacteriaceae) adalah bersifat gram negatif, berbentuk batang, berukuran 0,3-1,0 x 1,0-6,0 µm, pergerakan dengan flagella peritrik, fakultatif anaerob, tidak membentuk endospora dan dapat memfermentasikan laktosa dengan membentuk gas, tumbuh baik pada medium yang mengandung pepton atau *beef extract* pada suhu 22<sup>0</sup>-35<sup>0</sup>C, juga tumbuh pada Agar Mac Conkey (MAC) yang digunakan sebagai media selektif. Bakteri ini tersebar luas dalam air, tanah dan sebagai flora normal dalam usus manusia dan hewan (Todar 2004).

Berikut ini adalah klasifikasi *Escherichia coli* menurut NCBI (2017),

Kingdom	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Ordo	: Enterobacterales
Familia	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

*Escherichia coli* (*E.coli*) merupakan bakteri gram negatif, berbentuk batang, dan bakteri anaerobik fakultatif. Beberapa strain *E. coli* tidak berbahaya di saluran pencernaan manusia dan hewan sebagai flora normal. Namun, ada beberapa strain yang telah berkembang menjadi patogen *E. coli* dengan mengakuisisi faktor virulensi melalui plasmid, transposon, dan bakteriofag. Patogen *E. coli* dapat dikategorikan berdasarkan serogrup, mekanisme patogenisitas, gejala klinis, atau faktor virulensi (Lim *et al.* 2010).

Berdasarkan sifat patogenik dan virulensinya, maka *E. coli* dibagi menjadi lima grup Enterovirulen *E. coli* (EEC), yang dapat dilihat pada Tabel 1.

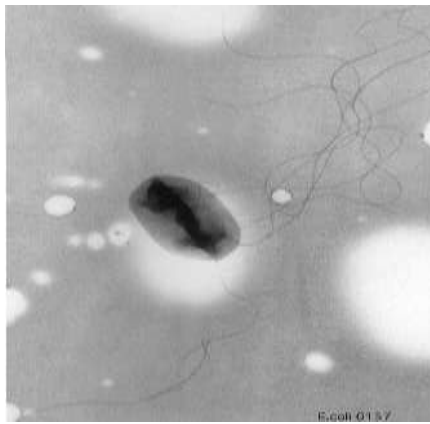
Tabel 1. Virotype *E. coli* (Odonkor & Ampofo 2013).

Nama	Hospes	Deskripsi
Enterotoksigenik <i>E. coli</i> (ETEC)	Agen penyebab diare (tanpa demam) pada manusia, babi, domba, kambing, anjing, dan kuda	ETEC dapat menghasilkan 2 protein enterotoksin yaitu LT enterotoksin mirip dengan toksin kolera, dan ST enterotoksin. Strain ETEC non-invasif yang merupakan penyebab utama diare pada anak.
Enteropathogenik <i>E. coli</i> (EPEC)	Agen penyebab diare pada manusia, kelinci, anjing, kucing, dan kuda	EPEC juga merupakan penyebab diare, tidak memproduksi LT dan ST toksin tetapi memproduksi enterotoksin.
Enteroinvasif <i>E. coli</i> (EIEC)	Ditemukan pada manusia	Infeksi EIEC menyebabkan sindrom yang identik dengan Shigellosis, dengan diare dan demam tinggi.
Enterohemoragik <i>E. coli</i> (EHEC)	Ditemukan pada manusia, binatang ternak (sapi, kerbau), dan kambing	Strain <i>E. coli</i> O157:H7 adalah salah satu strain EHEC yang dapat menyebabkan diare berdarah dan tidak demam. EHEC dapat menyebabkan <i>hemolytic-uremic syndrome</i> (HUS) dan kerusakan ginjal. menghasilkan toksin yang identik dengan <i>Shiga toksin</i> yang disebut <i>Shiga-like toksin</i> .
Enteroadgregatif <i>E. coli</i> (EAEC)	Ditemukan hanya pada manusia	Menyebabkan diare akut dan kronik yang persisten (dalam waktu lama) pada anak-anak. Bakteri ini melekat pada sel-sel epitel dalam suatu pola yang menyerupai suatu tumpukan batubata dan menghasilkan toksin <i>enteroaggregative ST</i> (EAST)

Sejak tahun 1982 penyebaran infeksi *E. coli* O157 telah dikumpulkan dari bermacam-macam makanan yaitu sari buah apel, susu murni, kecambah tanaman alfalfa dan daging sapi giling serta air minum (Griffin & Tauxe 1991). Pada tahun 2000, terjadi kontaminasi *E. coli* O157:H7 pada air yang disuplai oleh pemerintah Walkerton, Ontario, dan Canada dalam penyebarannya terjadi lebih dari 2000 kasus dengan 6 kematian (Zhao *et al.* 2001). Menurut Petridis (2002), penyebaran terbesar bakteri *E. coli* O157:H7 terjadi di Sakai (Jepang) dengan jumlah penderita 5727 orang, Scotlandia jumlah penderita 496 orang, Montana (USA) jumlah penderita 243 orang dan Pennsylvania (USA) jumlah penderita 51 orang.

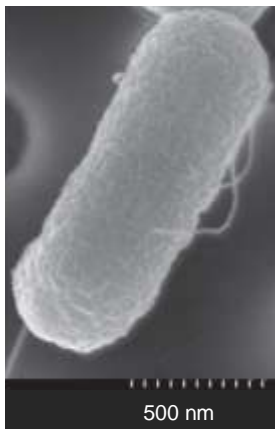
*E.coli* mempunyai ciri-ciri unik yaitu menunda fermentasi D-sorbitol (>24 jam) dan ketidakmampuan untuk menghasilkan  $\beta$ -glucuronidase yang dapat menghidrolisis molekul sintetik 4-methylumbelliferyl-D-glucuronide (MUG). Agar Sorbitol MacConkey disuplementasikan dengan MUG telah digunakan untuk deteksi *E.coli* O157, untuk menambah selektivitas *E.coli* O157. *Cefixime*, *potassium tellurite*, dan *vancomycin* ditambahkan pada agar SMAC untuk menghambat flora Gram negatif yang lain (Lim *et al.* 2010).

Berdasarkan hasil penelitian Todar (2005), morfologi *E.coli* O157 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. *Transmission Electron Microscope E.coli* O157 (Todar 2005)

Hasil penelitian Liu (2009) memperlihatkan morfologi bakteri *E.coli* O157:H7 menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang dapat dilihat pada Gambar 2.

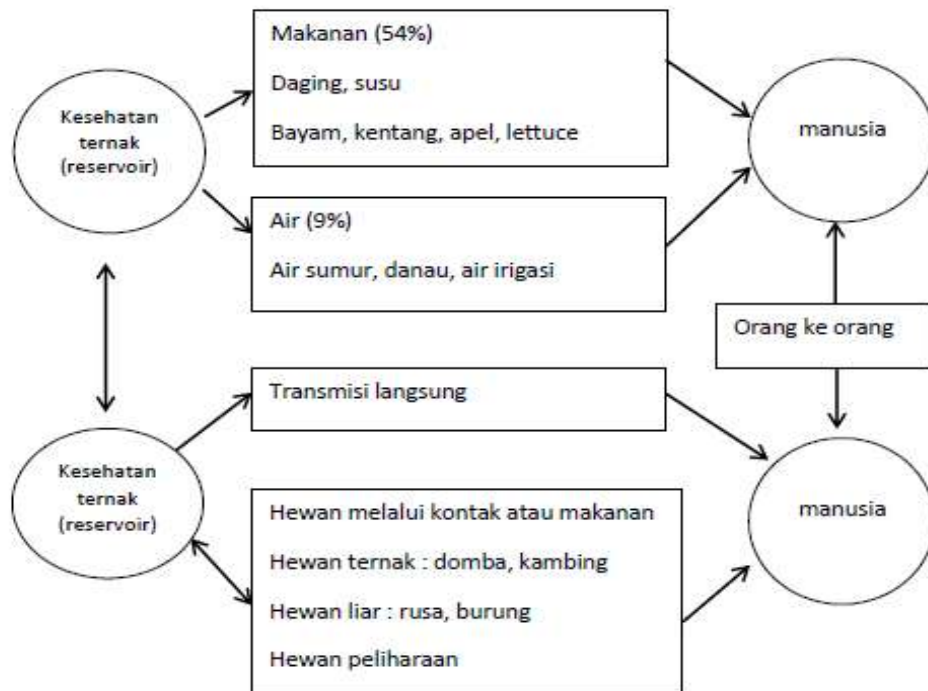


Gambar 2. *Scanning Electron Microscope* (SEM) *E.coli* O157:H7 (Liu 2009).

O157 merupakan serogrup EHEC yang paling umum ditemukan di saluran gastrointestinal, terhitung 60%-70% dilaporkan karena infeksi EHEC ( Watahiki *et al.* 2014). Transmisi EHEC mayoritas berasal dari hewan ternak dan ruminansia lain. Selain itu transmisi EHEC dapat melalui makanan khususnya daging, susu murni, jus buah dan air. Melalui kontak orang ke orang, zoonotik langsung dan transmisi lingkungan seperti melalui konsumsi makanan yang terkontaminasi pupuk kandang juga menjadi faktor resiko penting untuk transmisi EHEC. Pencemaran tanah dan air permukaan terbukti beberapa EHEC dapat bertahan dan di lingkungan, selain itu ditemukan sebagai kontaminan irigasi serta tanaman pangan dan sayuran (O'Brien 2001, Beutin *et.al* 2009).

Infeksi *E.coli* O157:H7 adalah masalah utama yang mengkhawatirkan di Amerika Utara, Eropa beberapa daerah lain di dunia, meskipun jumlah infeksi *E.coli* O157:H7 lebih rendah dari enterik patogen lain seperti *Salmonella* atau *Campylobacter* spp. Penyakit yang disebabkan oleh *E.coli* O157:H7 menunjukkan lebih tinggi dirawat di rumah sakit dan lebih fatal. Anak-anak dan orang tua mempunyai resiko lebih tinggi terkena HUS (*Hemolytic Uremic Syndrome*) (Lim *et al.* 2010). Infeksi awal EHEC ditandai gejala ringan seperti sakit perut dan diare. 10-15 % pasien meninggal dalam beberapa hari akibat HC dan HUS (Karch *et.al* 2005).

Di Amerika Serikat transmisi infeksi *E.coli* O157:H7 adalah melalui konsumsi makanan dan minuman terkontaminasi (Rangel *et al.* 2005). Meskipun penyebaran dapat juga secara langsung melalui orang dengan orang, terutama di fasilitas penitipan anak, dan dari hewan dengan manusia. Infeksi telah dilaporkan dari pengunjung kebun binatang, peternakan, atau tempat perkemahan yang terdapat hewan digembala (Heuvelink *et al.* 2002). Akhir-akhir ini potensi transmisi melalui udara dilaporkan di pameran hewan yang terkontaminasi (Varma *et al.* 2003). 350 wabah dilaporkan pada tahun 1982-2002, transmisi *E. coli* O157:H7 melalui makanan (52%), tidak diketahui (21%), orang dengan orang (14%), melalui air (9%), dan kontak hewan (3%) (Rangel *et al.* 2005). Model transmisi *E.coli* O157:H7 yang diperbarui dari diagram oleh Gansheroff dan O'Brien (2000) ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram transmisi *E.coli* O157:H7 (Gansheroff & O'Brien 2000)

Berbagai jalur transmisi yang dijelaskan pada Gambar 3, dosis infeksi dari *E.coli* O157:H7 sangat rendah (50 CFU/mL) (Lim *et al.* 2010). *E.coli* O157:H7 memiliki kemampuan untuk bertahan dalam lingkungan asam di lambung sehingga dapat menyebabkan infeksi intestinal. Resistensi asam dikaitkan dengan penurunan dosis infeksi dari enterik patogen. Dosis infeksi yang rendah adalah salah satu ciri-ciri utama *E.coli* O157:H7 yang membuat bakteri ini sangat menular.

*E.coli* O157:H7 dapat bertahan pada berbagai lingkungan seperti tanah, air dan makanan sebaik pada penampungan hewan. *E.coli* O157:H7 telah terbukti bertahan selama satu tahun di dalam tanah dan selama 21 bulan di pupuk mentah yang belum dikompos (Jiang *et al.* 2002). Pupuk kompos efektif untuk merusak *E.coli* O157:H7 jika suhu di atas 50°C selama 6 hari. *E.coli* O157:H7 dapat bertahan sangat lama di air, khususnya di suhu dingin (LeJeune *et al.* 2001). *E.coli* O157:H7 membutuhkan kemampuan untuk beradaptasi dengan berbagai atau perubahan ekstrim pada suhu, pH, dan kondisi osmosis yang biasanya ditemui di alam (Yuk & Marshall 2004).

## 2.2 Deteksi *E.coli* O157

Metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi *E.coli* O157 adalah teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*), ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) yang memanfaatkan antibodi monoklonal (4E8C12) spesifik untuk membran protein *E.coli* O157 dan medium agar Sorbitol MacConkey (SMAC) untuk isolasi *E.coli* O157 (Odonkor & Ampofo 2013). Agar Sorbitol MacConkey disuplementasikan dengan 4-methylumbelliferyl-D-glucuronide (MUG) telah digunakan untuk deteksi *E.coli* O157, untuk menambah selektivitas *E.coli* O157. *Cefixime*, *potassium tellurite*, dan *vancomycin* ditambahkan pada agar SMAC untuk menghambat flora Gram negatif yang lain (Lim *et al.* 2010).

Narang (2009) menyebutkan bahwa secara umum diagnosis infeksi *E.coli* O157:H7 dengan uji biokimia dan antiserum spesifik atau reagen aglutinasi latex untuk O157 dan antigen H7. Saat ini pengujian serologi dan molekuler berdasarkan pada *shiga toxin (stx)*, *shiga-like toxin (slt)*, intimin (*eae*), hemolisin A (*hlyA*), penyandi antigen O (*rfb*), dan H7 flagelar (*fliC<sub>H7</sub>*) secara umum digunakan untuk deteksi *E.coli* O157:H7.

Metode standar deteksi *E.coli* O157 pada sampel makanan dan minuman yang menggunakan larutan pengayaan, media selektif, identifikasi biokimia, pewarnaan Gram dan konfirmasi serologis. Hal itu membutuhkan waktu yang lama sekitar 5-6 hari, selain itu membutuhkan banyak tenaga (Fedio *et al.* 2011; Shen *et al.* 2014). Salah satu teknik deteksi antigen spesifik *E.coli* O157 yang didasarkan pada reaksi imunologi yang terus dikembangkan adalah *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Teknik ELISA digunakan secara luas di dunia untuk mendeteksi keberadaan dan jumlah agen penyakit seperti bakteri, virus, protein dan kontaminan seperti pestisida karena sangat sensitif (Wang 2005; Shen 2014). Kekurangan teknik ELISA adalah adanya reaksi silang terhadap antisera spesifik yang digunakan sehingga mengganggu hasil pengukuran (Zhao & Liu 2005).

Teknik *Indirect Double Antibody Sandwich Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (IDAS-ELISA) dikembangkan untuk deteksi *E.coli* O157. Teknik IDAS-ELISA digunakan dua jenis antibodi yang spesifik terhadap *E.coli* O157 yang

diproduksi pada hewan yang berbeda dengan tujuan untuk mencegah terjadinya reaksi silang. Teknik IDAS-ELISA sensitif, membutuhkan waktu sekitar 1-2 hari dan sederhana penanganannya dalam mendeteksi antigen sampai jumlah  $10^3$  sel/g atau  $10^3$  sel/ml (Aryanti & Maryam 2015). Teknik deteksi *E.coli* O157 lain telah banyak dikembangkan dan dilaporkan sangat sensitif dan bersifat selektif, membutuhkan biaya yang mahal antara lain *immunomagnetic separation* (IMS) *analys*, *flow cytometry*, *flouescens in situ hybridization*, *DNA microarrays* dan penggunaan elektrokimia untuk imunosensor (Shen *et al.* 2014).

Teknik PCR digunakan karena cepat, sensitivitas tinggi, dan untuk deteksi non kuantitatif dengan level rendah *E.coli* O157 pada sampel feses, makanan, dan air. Gen target untuk deteksi spesifik dengan teknik PCR biasanya terkait dengan faktor virulensi dari patogen seperti: gen *E.coli* O157 untuk biosintesis antigen O (gen *rfbE*), gen terkait dengan glukoronidase (gen *uidA*), gen terkait dengan verotoksin (gen *Shigalike toxins*, *stx1* dan *stx2*) dan gen yang terkait dengan protein yang berperan dalam perlekatan (gen *eaeA*) (Sharma *et al.* 2006; Suardana *et al.* 2010).

Bakteri EHEC O157 mempunyai 10 gen yang diperlukan untuk sintesis antigen O157 yaitu *rfbE*, *wbdQ*, *manC*, dan *manB* yang terlibat biosintesis gula nukleotida, *wbdN*, *wbdO*, *wbdP*, dan *wbdR* pada transfer gula (mengkode glikosil transferase), *wzy* mengkode polimerase antigen O, serta *wzx* yang mengkode flippase dalam pembentukan antigen O (Iguchi *et al.* 2011). Gen *rfbE* telah diidentifikasi sebagai penanda (*marker*) yang baik karena diturunkan pada semua fase pertumbuhan dari fase eksponensial awal sampai fase stasioner akhir. Gen *rfbE* merupakan gen target yang baik untuk mendeteksi kehadiran dari bakteri *E.coli* O157:H7 dalam sampel (Yaron & Matthews 2002; Liu *et al.* 2006). Menurut Bertrand dan Roig (2007), gen *rfbE* spesifik untuk serotype O157 karena semua strain mengekspresikan antigen ini dihubungkan dengan gejala klinis.



## 2.3 Air Minum

Air minum adalah salah satu kebutuhan utama bagi manusia. Air minum yang ideal seharusnya jernih, tidak berwarna, tidak berasa dan tidak berbau. Air minumpun seharusnya tidak mengandung kuman patogen dan segala organisme yang membahayakan kesehatan manusia, tidak mengandung zat kimia yang dapat mengubah fungsi tubuh, tidak korosif dan tidak meninggalkan endapan pada seluruh jaringan distribusinya. Pada hakekatnya, tujuan ini dibuat untuk mencegah terjadinya serta meluasnya penyakit bawaan air (*water borne disease*) (Soemirat 2004).

Menteri Kesehatan Republik Indonesia tahun 2002 menyebutkan baku mutu air minum yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Baku Mutu Air Minum (Menteri Kesehatan Republik Indonesia 2002).

Parameter	Satuan	Kadar maksimum yang diperbolehkan
Air minum		
<i>E.coli</i> atau fekal koli	Jumlah per 100 sampel	0
Air yang masuk sistem distribusi		
<i>E.coli</i> atau fekal koli	Jumlah per 100 sampel	0
Total bakteri Koliform	Jumlah per 100 sampel	0
Air pada sistem distribusi		
<i>E.coli</i> atau fekal koli	Jumlah per 100 sampel	0
Total bakteri Koliform	Jumlah per 100 sampel	0

Air minum dalam kemasan di Indonesia baru dikenal masyarakat luas di Indonesia pada tahun 1972, dengan merk Aqua. Air minum dalam kemasan memiliki keistimewaan antara lain karena rasa, bau, dan warna tidak berubah dari rasa, bau, dan warna air alami. Kebutuhan air minum yang sehat sangat dibutuhkan oleh semua orang, salah satunya air minum dalam kemasan. Harga air minum dalam kemasan yang relatif tinggi bila dibandingkan air minum isi ulang, tetapi daya beli masyarakat pada air minum dalam kemasan semakin meningkat. Hal ini terbukti dalam kurun waktu yang tidak terlalu lama, produk air minum dalam kemasan buatan Indonesia berkembang pesat (Waluyo 2009).

Menurut Deperindag (2004), Depot Air Minum (DAM) adalah usaha industri yang melakukan proses pengolahan air baku menjadi air minum dan

menjual langsung kepada konsumen. Lokasi DAM harus terbebas dari pencemaran yang berasal dari debu di sekitar depot, daerah tempat pembuangan kotoran/sampah, tempat penumpukan barang bekas, tempat berkembang biak serangga, sistem saluran pembuangan air, dan tempat-tempat lain yang diduga dapat mengakibatkan pencemaran. Bahan baku utama yang digunakan adalah air yang diambil dari sumber yang terjamin kualitasnya, tidak diperbolehkan mengambil air baku yang berasal dari air PDAM yang ada dalam jaringan distribusi untuk rumah tangga. Beberapa hal yang harus dilakukan untuk menjamin mutu air baku meliputi:

1. Sumber air baku harus terlindung dari cemaran kimia dan mikrobiologis yang bersifat merusak/mengganggu kesehatan
2. Air baku diperiksa secara berkala terhadap parameter fisik, kimia dan mikrobiologis

Seluruh mesin dan peralatan produksi yang kontak langsung dengan air harus terbuat dari bahan tara pangan (*food grade*), tahan korosi dan tidak bereaksi dengan bahan kimia. Mesin dan peralatan dalam proses produksi DAM sekurang-kurangnya terdiri dari:

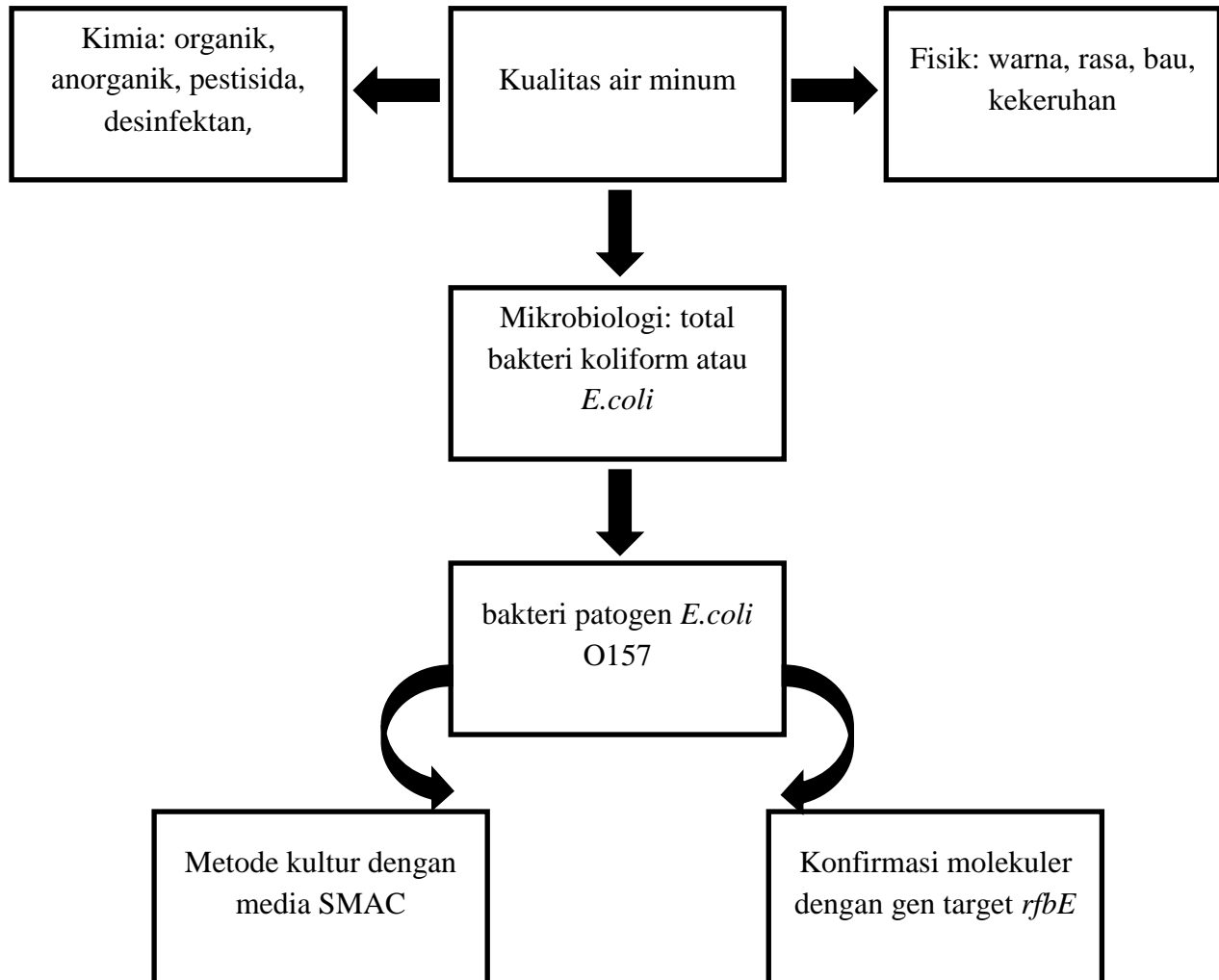
1. Bak atau tangki penampung air baku
2. Unit pengolahan air (*water treatment*) terdiri atas:
  - a. Prefilter (saringan pasir) yang berfungsi menyaring partikel-partikel yang kasar, dengan bahan dari pasir atau jenis lain yang efektif dengan fungsi yang sama.
  - b. Karbon filter berfungsi sebagai penyerap bau, rasa, warna, sisa khlor dan bahan organik.
  - c. Filter lain berfungsi sebagai saringan halus berukuran maksimal 10 mikron.
  - d. Alat desinfektan (ozonisasi dan ultraviolet) yang berfungsi untuk membunuh kuman patogen.
3. Alat pengisian yaitu mesin dan alat untuk memasukkan air minum ke dalam wadah.

Sebelum dijual untuk pertama kali produk air minum harus dilakukan pengujian mutu yang dilakukan oleh laboratorium yang terakreditasi atau yang

ditunjuk oleh Pemerintah Kota/Kabupaten yang terakreditasi. Pengujian mutu air minum wajib memenuhi persyaratan Keputusan Menteri Kesehatan No. 907/Menkes/SK/VII/2002.

Hasil penelitian Wu *et al.* (2016) menyatakan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* positif terdapat pada sampel air minum di Guangdong China, terindikasi bahwa 25% dari sumber air, 32,3% dari air karbon, dan 4,6% air terakhir atau produk air minum. Hasil penelitian Hsu *et al.* (2011) menyebutkan bahwa di Taiwan 116 sampel air minum 10 sampel (8,6%) positif terdapat *Salmonella* spesifik dengan metode PCR sebagai gen target *invA*. Zhou *et al.* (2011) menyebutkan bahwa dari 30 botol sampel air minum di Shanghai China satu sampel terkontaminasi *Klebsiella pneumoniae*, dua sampel oleh *Shigella*, dan satu sampel oleh *Yersinia enterocolitica*. Hal ini ditemukan secara konsisten dikonfirmasi dengan teknik sekuens 16S rDNA, sekuens gen ITS, dan kultur selektif *Shigella* spp.

## 2.4 Kerangka Berpikir



Gambar 4. Kerangka berpikir penelitian tentang deteksi *E.coli* O157 pada berbagai air minum di Kelurahan Sekaran Gunungpati Semarang.

## **BAB 5**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Simpulan**

Berdasarkan hasil deteksi *Escherichia coli* O157 pada beberapa air minum di Kelurahan Sekaran Gunungpati Semarang dapat disimpulkan sebanyak 8 sampel air minum dari 20 sampel (40%) positif *E. coli* O157 pada media SMAC Agar dan O157 latex agglutination test. Delapan sampel air positif *E.coli* O157 tersebut adalah 4 sampel air sumur (20%) dan 4 sampel air minum isi ulang (20%).

#### **5.2 Saran**

Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengeksplorasi isolat *E.coli* O157 hasil penelitian dengan primer lain untuk gen *rfbE*.

## DAFTAR PUSTAKA

- [NCBI]. National Center for Biotechnology Information. 2017. Classification of *Escherichia coli*. Online at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [05 Februari 2017].
- Abong'o BO, momba MNB. 2008. Prevalence and Potential Link Between *E.coli* O157:H7 isolated from Drinking Water, Meat, and Vegetables and Stools of Diarrheic Confirmed and 13 Non-Confirmed HIV/AIDS Patients in the Amathole District-South Africa. *J. Appl. Microbiol.* 105(2): 424-431.
- Aris M, Sukenda, Haris E, Sukadi MF, Yuhana M. 2013. Identifikasi Molekuler Bakteri Patogen dan Desain primer PCR. *Jurnal Budidaya Perairan.* 1(3): 43-50.
- Armstrong GL, Hollingsworth J & Morris JG. 1996. Emerging food borne pathogens: *E. coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiol. Rev.* 18:29-51.
- Aryanti T & Maryam R. 2015. Deteksi *Escherichia coli* O157:H7 pada Bahan Pangan Asal Ternak dan Olahannya dengan Teknik IDAS-ELISA. Prosiding Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner.
- Bertrand R & Roig B. 2007. Evaluation of enrichment-free PCR-based detection on the *rfbE* gene of *Escherichia coli* O157 application to municipal wastewater. *Water res.* 41(6): 1280-1286.
- Beutin L, Jahn S & Fach P. 2009. Evaluation of the 'GeneDisc' real-time PCR system for detection of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O26, O103, O111, O145 and O157 strains according to their virulence markers and their O- and H-antigen-associated genes. *Journal of Applied Microbiology.* 106: 1122-1132.
- Bintari SH, Fibriana F, Mustikanintyas D & Iswari RS. 2014. PCR approach for rapid detection of *Escherichia coli* in tempe using a specific primer. *Journal of Biological Researches.* 19: 54-58.
- Bridson EY. 1998. The Oxoid Manual. 8<sup>th</sup> Ed.
- Fedio WM, Jinneman KC, Yoshitomi KJ, Zapata R, Wendakoon CN, Browning P & Weagant SD. 2011. Detection of *E.coli* O157:H7 in raw ground beef by Pathatrix<sup>TM</sup> immunomagneticseparation, real-time PCR and cultural methods. *Int J Food Microbiol.* 148:87-92.
- Feng P, Field PI, Swaminathan B & Whittam TS. 1996. Characterization of Nonmotile variants of *Escherichia coli* O157 and Other Serotypes by

- Using an Antiflagellin Monoclonal Antibody. *Journal of Clinical Microbiology*. 34(11): 2856-2859.
- Franz E, Klerks MM, De Vos OJ, Termorshuizen AJ & van Bruggen AHC. 2007. Prevalence of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli stx1, stx2, eaeA*, and *rfbE* Genes and Survival of *E.coli* O157:H7 in Manure from Organic and Low-Input Conventional Dairy Farms. *Applied and Environmental Microbiology*. 73: 2180-2190.
- Gansheroff LJ & O'Brien AD. 2000. *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle presented for slaughter in the US: Higher prevalence rates than previously estimated. *Proc Natl Acad Sci USA*. 97: 2959-2961.
- Gibson KE. 2014. Viral pathogens in water: occurrence, public health impact, and available control strategies. *Curr. Opin. Virol*. 4: 50-57.
- Griffin PM & Tauxe RV. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *Escherichia coli*, and the associated hemolytic-uremic syndrome. *Epidemiol Rev*. 13: 60-98.
- Hatta M & Smits HL. 2007. Detection of *Salmonella typhi* by Nested Polymerase Chain Reaction in Blood, Urine, and Stool Samples. *Am. J. Trop. Med. Hyg*. 76(1): 139-143.
- Heuvelink AE, van Heerwaarden C, Zwartkruis-Nahuis JT, van Oosterom R, Edink K, van Duynhoven YT & de Boer E. 2002. *Escherichia coli* O157 infection associated with a petting zoo. *Epidemiol Infect*. 129: 295-302.
- Hsu BM, Huang KH, Huang SW, Tseng KC, Su MJ, Lin WC, Ji DD, Shih FC, Chen JL & Kao PM. 2011. Evaluation of different analysis and identification methods for *Salmonella* detection in surface drinking water sources. *Science of the Total Environment*. 409: 4435-4441.
- Iguchi A, Shirai H, Seto K, Ooka T, Ogura Y, Hayashi T, Osawa K & Osawa R. 2011. Wide Distribution of O157-Antigen Biosynthesis Gene Clusters in *Escherichia coli*. *PloS ONE*. 6(8): 1-10.
- Iijima YM, Matsumoto K, Higuchi T, Furuta T & Honda. 1996. Resistance to dryness of *Escherichia coli* O157:H7 strains from outbreak in Saki City, Japan. *Emerg. Infect. Dis*. 4: 340-341.
- Indirawati SM. 2009. Analisis Higiene Sanitasi dan Kualitas Air Minum Isi Ulang (AMIU) Berdasarkan Sumber Air Baku Pada Depot Air Minum di Kota Medan. *Tesis*. Universitas Sumatera Utara:Medan.

- Iwobi A, Huber I & Busch U. 2012. *The Application of PCR-Based Methods in Food Control Agencies- A Review. Polymerase Chain Reaction*. Shanghai : InTech.
- Izza F. 2017. Deteksi Cemaran Bakteri Patogen *Escherichia coli* O157:H7 pada Susu Sapi Perah secara Konvensional dan Molekuler. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana malik Ibrahim.
- Jiang X, Morgan J & Doyle MP. 2002. Fate of *Escherichia coli* O157:H7 in manure-amended soil. *Appl Environ Microbiol*. 68: 2605-2609.
- Kandou FEF. 2009. Analisis Molekuler *Escherichia coli* serotype O157:H7 pada Air Minum dalam Kemasan dan Isi Ulang menggunakan Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan *rfbE* sebagai Gen Target. *Chem.Prog*. 2(1): 8-14.
- Karch H, Tarr PI & Bielaszewska M. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol*. 295: 405-418.
- LeJeune JT, Besser TE & Hancock DD. 2001. Cattle water troughs as reservoirs of *Escherichia coli* O157. *Appl Environ Microbiol*. 67: 3053-3057.
- Lim JY, Yoon JW & Hovde CJ. 2010. A Brief Overview of *Escherichia coli* O157:H7 and Its Plasmid O157. *J Microbiol Biotechnol*. 20(1): 5-14.
- Liu Y, He L, Mustapha A, Li H, Hu ZQ & Lin M. 2009. Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *escherichia coli* O157:H7. *Journal of Applied Microbiology*. 107: 1193-1201.
- \_\_\_ YZ, Gong N, Morin O, Pui M, Cheung H, Zhang & Li XF. 2006. Electronic deoxyribonucleic acid (DNA) microarray detection of viable pathogenic *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, and *Salmonella typhi*. *Anal. Chim. Acta*. 578: 75-81.
- March SB & Ratnam S. 1986. Sorbitol-MacConkey Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J.Clin. Microbiol*. 23(5): 869-872
- Morin NJ, Gong Z & Li XF. 2004. Reverse Transcription-Multiplex PCR Assay for Simultaneous Detection of *Escherichia coli* O157: H7, *Vibrio cholerae* OI, and *Salmonella Typhi*. *Clinical Chemistry*. 50(11): 2037-2044.
- Narang N, Fratamico PM, Tillman G, Pupedis K & Cray WC Jr. 2009. Performance comparison of a fliCh7 real-time PCR assay with an H7 latex agglutination test for confirmation of the H type of *Escherichia coli* O157:H7. *J Food Prot* . 72: 2195-2197.



- Natalia LA, Bintari SN & Mustikaningtyas D. 2014. Kajian Kualitas Bakteriologis Air Minum Isi Ulang di Kabupaten Blora. *Unnes J. Life Sci.* 3(1): 31-38.
- Nugroho FAD. 2015. Identifikasi Pola Haplotipe DNA Mitokondria Udang Jari (*Metapenaeus elegans*) Segara Anakan Kabupaten Cilacap Jawa Tengah Menggunakan Enzim Restriksi HindIII. *Skripsi*. Malang: UIN Maliki Malang.
- O'Brien S, Adak GK & Gilham C. 2001. Contact with farming environment as a major risk factor for Shiga toxin (vero cytotoxin) producing *Escherichia coli* O157 infection in humans. *Emerg Infect Dis.* 7: 1049-1051
- Odonkor ST & Ampofo JK. 2013. *Escherichia coli* as an indicator of bacteriological quality of water: an overview. *Microbiology Research.* 4: 5-11.
- Park CH, Vandell NM & Hixon DL. 1996. Rapid Immunoassay for Detection of *Escherichia coli* O157 Directly from Stool Specimens. *Journal of Clinical Microbiology.* 34(4): 988-990.
- Peraturan Menperindag RI No. 651/MPP/Kep/10/2004 tentang Persyaratan Teknis Depot Air Minum dan Perdagangannya. 2004. Jakarta: Departemen Perindustrian dan Perdagangan Republik Indonesia.
- Permenkes RI No. 907/Menkes/SK/VII/2002 tentang Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum. 2002. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Perna NT, Plunkett G, Burland V, Mau B, Glasner JD & Rose DJ. 2001. Genome sequence of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. *Nature.* 409: 529-533.
- Petridis H, Kidder G & Ogram A. 2002. *Escherichia coli* O157:H7 a Potential Health Concern. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville.
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.
- 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. *Makara Sains.* 14(1): 39-43.
- Rangel JM, Sparling PH, Crowe C, Griffin PM & Swerdlow DL. 2005. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 outbreaks, United States. *Emerg Infect Dis.* 11: 603-609.

- Sambrook J & Russel DW. 2001. *Molecular cloning Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sharma VK. 2006. Real-time reverse transcription-multiplex PCR for simultaneous and specific detection of *rfbE* and *eae* genes of *Escherichia coli* O157:H7. *Molecular and Cellular Probes*. 20: 298-306.
- Shen ZN, Jin HM, Qiu Z, Wang J, Zhang B, Wang X, Wang J, Zhou D, Li J. 2014. A novel enzyme-linked immunosorbent assay for detection of *Escherichia coli* O157:H7 using immunomagnetic and beacon gold nanoparticles. *Gut Pathogens*. 6:14.
- Soemirat J. 2004. *Kesehatan Lingkungan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Suardana IW, Artana WT, Asmara W & Daryoni BS. 2010. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 serta Deteksi Gen *Shiga Like Toxin 1* dan *2* Asal Feses Hewan, Daging, dan Feses Manusia. *Jurnal Veteriner*. 11(4): 264-270.
- \_\_\_\_\_, Irawan IGMK, Sumiarto B & Lukman DW. 2009. Deteksi Produksi Toksin Stx-1 dan Stx-2 dari *Escherichia coli* O157:H7 Isolat Lokal Hasil Isolasi Feses dan Daging Sapi. *Jurnal Veteriner*. 10(4): 189-193.
- Sudrajat D, Maria RL & Suhadi F. 2000. Deteksi Cepat bakteri *Escherichia coli* Enterohemoragik (EHEK) dengan Metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). *Risalah Pertemuan Ilmiah Penelitian dan Pengembangan Teknologi Isotop dan Radiasi*.
- Sunarno, Muna F, Fitri N, Malik A, Karuniawati A & Soebandrio A. 2014. Metode cepat ekstraksi DNA *Corynebacterium diphtheria* untuk pemeriksaan PCR. *Bul. Penelit Kesehatan*. 42(2): 85-92.
- Suria MS, Azlina A, Afendy M & Zamri I. 2013. Multiplex Polymerase Chain Reaction (PCR) efficiency in detection of pathogenic *Escherichia coli* O157:H7. *International Research Journal*. 20(6): 3307:3311.
- Taib DA. 2012. Aspek kualitas dan hygiene sanitasi depot air minum isi ulang (DAMIU) di kecamatan kota utara kota Gorontalo. *Public Health Journal*. 1(1): 93-104
- Todar K. 2004. *The Enteric Bacteria*. Todar's Online Textbook of Bacteriology. University of Wisconsin-Madison.

- Todar K. 2005. *E.coli* Infections. Ken Todar's Microbial World. University of Wisconsin-Madison.
- Varma JK, Greene KD, Reller ME, DeLong SM, Trottier J, Nowicki SF. 2003. An outbreak of *Escherichia coli* O157 infection following exposure to a contaminated building. *JAMA*. 290: 2709-2712.
- Waluyo L. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. Malang: UMM Press.
- Wandrivel R, Suharti N & Lestari Y. 2012. Kualitas Air Minum yang Diproduksi Depot Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Bungus Padang berdasarkan Persyaratan Mikrobiologi. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 1(3): 129-133.
- Watahiki M, Isobe J, Kimata J, Shima K, Kanatani J, Shimizu M, Nagata A, Kawakami K, Yamada M, Izumiya M, Izumiya H, Iyoda S, Ishihara T, Mitobe J, Terajima J, Ohnishi M & Sata T. 2014. Characterization of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 and O157 Strains Isolated from Outbreak Patients in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*. 52(8): 2757-2763.
- Willshaw GA, Thirlwell J, Jones AP, Parry S, Salmon RL & Hickey M. 1994. Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in beef burgers linked to an outbreak of diarrhea, hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome in Britain. *Lett Appl Microbiol*. 19: 304-307.
- Wu Q, Ye Y, Li F, Zhang J & Guo P. 2016. Prevalence and genetic characterization of *Pseudomonas aeruginosa* in drinking water in Guangdong Province of China. *LWT-Food Science and Technology*. 69: 24-31.
- Yaron S & Matthews KR. 2002. A reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for detection of viable *Escherichia coli* O157:H7: investigation of specific target genes. *Journal of Applied Microbiology*. 92: 633-640.
- Yuk HG & Marshall DL. 2004. Adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 to pH alters membrane lipid composition, verotoxin secretion, and resistance to simulated gastric fluid acid. *Appl Environ Microbiol*. 70: 3500-3505.
- Yuwono T. 2006. *Teori dan Aplikasi PCR*. Yogyakarta: Penerbit ANDI.
- Zhao T, Doyle MP & Zhao P. 2001. Chlorine Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in Water. *Journal of Food Protectio*. 64(10): 1607-1609.

- \_\_\_\_\_ Z & Liu X. 2005. Preparation of monoclonal antibody and development of enzyme-linked immunosorbent assay spesific for *Escherichia coli* O157 in Foods. *Bio Environ Sci.* 18: 254-259.
- Zhou G, Wen S, Liu Y, Li R, Zhong X, Feng L, Wang L & Cao B. 2011. Development of a DNA microarray for detection and identification of *Legionella pneumophila* and ten other pathogens in drinking water. *International Journal of Food Microbiology.* 145: 293-300.