



**HUBUNGAN HIGIENE SANITASI DEPOT AIR MINUM ISI ULANG
DENGAN JUMLAH BAKTERI *Escherichia coli* DALAM AIR MINUM ISI
ULANG DI KECAMATAN SUMBERSARI KABUPATEN JEMBER**

SKRIPSI

Oleh

DWI PUTRI AGUSTIN

NIM 100210103041

Dosen Pembimbing I : Drs. Wachju Subchan, M.S., Ph.D.

Dosen Pembimbing II : Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER
2015**



**HUBUNGAN HIGIENE SANITASI DEPOT AIR MINUM ISI ULANG
DENGAN JUMLAH BAKTERI *Escherichia coli* DALAM AIR MINUM ISI
ULANG DI KECAMATAN SUMBERSARI KABUPATEN JEMBER**

SKRIPSI

disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1) pada Program Studi Pendidikan Biologi

Oleh

DWI PUTRI AGUSTIN

NIM 100210103041

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MIPA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JEMBER**

2015

PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang,
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orangtuaku Bapak Kuntoko dan Ibu Sumiati , atas cinta kasih senantiasa memberikan doa dan kasih sayang serta dukungan baik moril maupun materil demi terselesaikannya skripsi ini;
2. Kakakku Dwi Atus Fitria dan Dwi Ratna Damai Yanti, serta Kakak iparku Bowo Wardoyo dan Muhayat Mite yang selalu memberikankan motivasi;
3. Semua guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
4. Bapak dan Ibu Dosen Pengajar dan Pembimbing, terimakasih atas kesabaran dalam membimbing, ketulusan dalam memberikan ilmu pengetahuan dan keikhlasan dalam membagi pengalaman;
5. Almamater yang kubanggakan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

MOTTO

Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.

(terjemahan QS> Al Mujadilah:11)^{*)}

Kejeniusan hanyalah sepuluh persen dari kesuksesan hidup, sembilan puluh persen dari itu adalah kerja keras.^{**)}

Jangan pikirkan bagaimana hasil akhirnya, tapi pikirkan bagaimana cara memulainya.^{***)}

^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2002. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Bandung: JUMANATUL 'ALI-ART (J-ART).

^{**)} Spotlite, Trans7.

^{***)} Hitam putih, Trans7

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Dwi Putri Agustin

NIM : 100210103041

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Hubungan Higiene Sanitasi Depot Air Minum Isi Ulang dengan Jumlah Bakteri *Escherichia Coli* dalam Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Sumpalsari Kabupaten Jember”, adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan dalam institusi mana pun serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun dan bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 7 Desember 2015

Yang menyatakan,

Dwi Putri Agustin

NIM 100210103041

SKRIPSI

**HUBUNGAN HIGIENE SANITASI DEPOT AIR MINUM ISI ULANG
DENGAN JUMLAH BAKTERI *Escherichia coli* DALAM AIR MINUM ISI
ULANG DI KECAMATAN SUMBERSARI KABUPATEN JEMBER**

Oleh

Dwi Putri Agustin

NIM 100210103041

Pembimbing

Dosen Pembimbing I : Drs. Wachju Subchan, M.S., Ph.D.

Dosen Pembimbing II : Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.

PERSETUJUAN

**HUBUNGAN HIGIENE SANITASI DEPOT AIR MINUM ISI ULANG
DENGAN JUMLAH BAKTERI *Escherichia coli* DALAM AIR MINUM ISI
ULANG DI KECAMATAN SUMBERSARI KABUPATEN JEMBER**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Studi Pendidikan Biologi dan mencapai gelar Sarjana Pendidikan (S1)

Oleh

Nama Mahasiswa : Dwi Putri Agustin
NIM : 100210103041
Jurusan : Pendidikan MIPA
Program Studi : Pendidikan Biologi
Angkatan Tahun : 2010
Daerah Asal : Bondowoso
Tempat, Tanggal Lahir : Bondowoso, 2 Agustus 1992

Disetujui Oleh

Dosen Pembimbing I,

Dosen Pembimbing II,

Drs. Wachju Subchan, M.S.,Ph.D.
NIP. 19630813 199302 1 001

Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.
NIP 19600309 198702 2 002

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Hubungan Higiene Sanitasi Depot Air Minum Isi Ulang dengan Jumlah Bakteri *Escherichia Coli* dalam Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember pada:

Hari/Tanggal : 7 Desember 2015

Tempat : Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Drs. Wachju Subchan, M.S.,Ph.D.
NIP. 19630813 199302 1 001

Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes.
NIP 19600309 198702 2 002

Anggota I,

Anggota II

Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si.
NIP 19660806 199703 1 001

Dr. Iis Nur Asyiah, S.P, M.P.
NIP. 19730614 200801 2 008

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan

Prof. Dr. Sunardi, M.Pd.
NIP 19540501 198303 1 005

RINGKASAN

Hubungan Higiene Sanitasi Depot Air Minum Isi Ulang dengan Jumlah Bakteri *Escherichia Coli* dalam Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember; Dwi Putri Agustin; 100210103041; 2015; 66 halaman; Program Studi Pendidikan Biologi; Jurusan Pendidikan MIPA, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Seiring dengan makin majunya teknologi diiringi dengan semakin sibuknya aktivitas manusia maka masyarakat cenderung memilih cara yang lebih praktis untuk memenuhi kebutuhan air minum. Namun, harga air minum dalam kemasan dari berbagai merek yang terus meningkat membuat konsumen mencari alternatif baru yang lebih murah yaitu air minum isi ulang yang berasal dari depot air minum sehingga keberadaan depot air minum isi ulang terus meningkat. Kegemaran masyarakat terhadap konsumsi air minum dalam kemasan yang berasal dari depot air minum isi ulang saat ini perlu diwaspadai, hal ini dikarenakan telah banyak penelitian di kota besar yang menemukan bahwa banyak usaha depot air minum yang tidak memperhatikan keamanan produknya. Untuk menjamin agar air minum yang dihasilkan aman dan sehat untuk dikonsumsi maka diperlukan upaya penyelenggaraan higiene sanitasi depot air minum. Higiene sanitasi depot air minum meliputi faktor tempat usaha, faktor tenaga sebagai operator dan faktor peralatan serta proses menjadi air minum karena hal ini akan sangat mempengaruhi kualitas kelayakan air untuk dikonsumsi khususnya dari segi bakteri yang dapat membahayakan masyarakat.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui (1) hubungan keadaan sanitasi depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang (2) hubungan ke higienisan operator di depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang (3) hubungan kondisi peralatan dan

proses produksi yang dilaksanakan di depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang di Kecamatan Sumpalsari Kabupaten Jember.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi dan sembilan depot air minum isi ulang di wilayah Kecamatan Sumpalsari Kabupaten Jember. Pengambilan data didapatkan dari observasi secara langsung ke depot air minum untuk melakukan pengamatan keadaan pelaksanaan higiene sanitasi yang meliputi pengamatan kondisi sanitasi depot, kondisi higiene operator, kondisi alat dan proses produksi disesuaikan dengan rubrik yang dibuat berdasarkan Pedoman Penilaian Pelaksanaan Penyelenggaraan Higiene Sanitasi Depot Air Minum. Perhitungan jumlah bakteri *Escherichia coli* dilakukan dengan pemeriksaan *Most Probable Number (MPN)* dilakukan terhadap sampel dengan menggunakan metode tabung ganda yang terdiri dari (5 x 10 ml) : (1 x 1 ml) : (1 x 0,1 ml). Pemeriksaan tabung ganda terdiri dari; Uji Penduga (*Presumptive Test*) dan Uji Penegasan (*Convirmative Test*).

Hasil dari penelitian yang ditinjau dari beberapa aspek diantaranya dari keadaan sanitasi dan keadaan peralatan menunjukkan depot air minum isi ulang yang memenuhi syarat sebanyak 3 depot (33%), dan yang tidak memenuhi syarat sebanyak 6 depot (67%), keadaan Operator hanya 1 (11%) depot air minum yang memenuhi syarat, 8 (89%) depot air minum tidak memenuhi syarat, Adapun hasil Uji kualitas bakteriologi air minum isi ulang semua menunjukkan Positif mengandung Bakteri *Escherichia coli*.

Kesimpulan dari hasil analisis dan pembahasan adalah terdapat hubungan antara kondisi sanitasi, kehygienisan operator, kondisi alat dan proses produksi dengan kualitas bakteriologi air minum isi ulang di Kecamatan Sumpalsari Kabupaten Jember. Hal ini dapat dilihat dari nilai *Pearson Correlation* yang diperoleh yaitu -0,798; -0,709 dan -0,758 Semakin tinggi skor yang diperoleh dalam penilaian tersebut maka semakin sedikit jumlah bakteri *Escherichia coli* yang ditemukan pada air minum isi ulang.

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat-Nya sehingga penulisan skripsi dengan judul “Hubungan Higiene Sanitasi Depot Air Minum Isi Ulang dengan Jumlah Bakteri *Escherichia Coli* pada Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember” dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat penyelesaian pendidikan S1 pada Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Sunardi, M.Pd., selaku Dekan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Jember;
2. Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Ketua Jurusan Pendidikan MIPA FKIP Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Suratno, M.Si., selaku Ketua Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
4. Drs. Wachju Subchan, M.S.,Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I dan Dr. Dwi Wahyuni, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing II yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
5. Prof. Dr. H. Joko Waluyo, M.Si., dan Dr. Iis Nur Asyiah, S.P, M.P., selaku Dosen Penguji sidang skripsi;
6. Dr. Jekti Prihatin, M.Si, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan tuntunan serta arahan selama penulis menjadi mahasiswa Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Jember;
7. Semua dosen FKIP Pendidikan Biologi, atas semua ilmu yang diberikan selama menjadi mahasiswa Pendidikan Biologi;

8. Bapak Tamyis, Bapak Adi dan Mbak Evi, selaku Teknisi Laboratorium Pendidikan Biologi yang telah mengarahkan dan membantu dalam pelaksanaan penelitian ini;
9. Bapak, Mama dan kedua kakakku tercinta, atas dukungan, doa, semangat, nasihat dan kasih sayangnya yang senantiasa tercurah sampai terselesaikannya skripsi ini;
10. Dayu Dita Setiawan yang selalu memberikan segala bantuan, dukungan, nasihat, doa dan kesabaran yang membuatku tetap kuat dalam menyelesaikan karya ini;
11. Teman-teman seperjuangan Mustain, Merla, Islia, Haqqi, Oyot, Ilmi, Deni, Apris, Abob, Nuris, Tama, Rian, Niswati, Nat, Parka yang telah saling membantu dan memotivasi satu sama lain;
12. Sahabat-sahabatku tersayang Wewe, Ica, Pus yang selalu menjadi tempat berbagi kebahagiaan dan kesedihan serta senantiasa memberi kasih sayang selayaknya keluarga;
13. Teman-teman pendidikan biologi angkatan 2010 yang selalu berbagi keceriaan, memberikan banyak cerita, pelajaran dan pengalaman berharga yang tak akan pernah terlupakan;
14. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Kritik dan saran sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini, semoga Allah SWT memberikan balasan atas kebaikan semua pihak yang telah memberikan bantuan kepada penulis. Besar harapan penulis agar skripsi ini dapat menghadirkan manfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, 7 Desember 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Batasan Masalah	6
1.4 Tujuan Penelitian	7
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Air	9
2.2 Air Minum	10
2.2.1 Syarat Kualitas Air Minum.....	11
2.3 Depot Air Minum	12
2.3.1 Pengertian Depo Air Minum.....	12
2.3.2 Air Minum Isi Ulang (AMIU)	12

2.4 Higiene Sanitasi	13
2.4.1 Pengertian Higiene Sanitasi	13
2.4.2 Pedoman Pelaksanaan Sanitasi Depot Air Minum	14
2.4.3 Higiene Operator Depot Air Minum	16
2.4.4 Peralatan Depot Air Minum	16
2.4.5 Proses Produksi Depot Air Minum	18
2.5 Mikroorganisme dalam air	20
2.6 Persyaratan Kualitas Bakteriologi air minum	22
2.7 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
2.7.1 Definisi dan Morfologi bakteri <i>Escherichia coli</i>	23
2.7.2 Sifat – Sifat <i>Escherichia coli</i>	23
2.7.3 Klasifikasi bakteri <i>Escherichia coli</i>	24
2.7.4 Cara pemeriksaan bakteri <i>Escherichia coli</i>	24
2.8 Uji Mikrobiologi Air	25
2.8.1 Pengujian Bakteri <i>Escherichia coli</i>	25
2.8.2 Teknik Perhitungan Jumlah Bakteri	26
BAB 3. METODE PENELITIAN	28
3.1 Jenis Penelitian	28
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.3 Populasi dan Sampel	28
3.3.1 Populasi	28
3.3.2 Sampel	28
3.4 Metode Pengumpulan Data	30
3.4.1 Data Primer	30
3.4.2 Data Sekunder	30
3.5 Definisi Operasional Variabel	31
3.5.1 Variabel Bebas dan Parameternya	31
3.5.2 Variabel Bebas dan Parameternya	31
3.5.3 Definisi Operasional	31

3.6 Alat dan Bahan Penelitian	32
3.6.1 Alat	32
3.6.2 Bahan	32
3.7 Prosedur Penelitian	32
3.7.1 Proses pengambilan data	32
3.7.2 Sterilisasi Alat dan Bahan	33
3.7.3 Pembuatan Medium	33
3.7.4 Pengambilan Sampel.....	33
3.7.5 Pengujian Sampel di Laboratorium	33
3.7.6 Uji Penduga.....	33
3.7.7 Uji Penegasan	35
3.7.8 Pembacaan Hasil.....	35
3.7.9 Karakterisasi Bakteri <i>Escherichia coli</i>	36
3.8 Analisis Data	39
3.9 Alur Penelitian	40
3.9.1 Penilaian higiene sanitasi	40
3.9.2 Pengujian Bakteri	41
3.9.3 Hubungan Higiene Sanitasi dengan Jumlah Bakteri	42
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN	43
4.1 Hasil Penelitian	43
4.1.1 Gambaran Umum Kecamatan Sumbersari	43
4.1.2 Hasil Pengamatan Sanitasi Depot Air Minum Isi ulang	43
4.1.3 Hasil Penilaian Sanitasi Setiap Depot Air Minum Isi Ulang	49
4.1.4 Hasil Pengamatan tentang Kehigienisan Operator	50
4.1.5 Hasil Penilaian Kehigienisan Operator	52
4.1.6 Hasil Pengamatan Peralatan dan Proses Produksi.....	53
4.1.7 Hasil Penilaian Kondisi Peralatan dan Proses Produksi.....	57
4.1.8 Hasil Wawancara Karakteristik Responden.....	58
4.1.9 Pemeriksaan Jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i>	60

4.1.10 Hubungan Keadaan Sanitasi, Kehigienisan operator dan Proses Produksi Depot Air Minum Isi Ulang dengan Jumlah Bakteri <i>Escherichia coli</i>	61
4.2 Pembahasan	63
4.2.1 Karakteristik Pengelola atau Penanggung Jawab	63
4.2.2 Keadaan sanitasi depot air minum isi ulang	65
4.2.3 Kehigienisan Operator di Depot Air Minum Isi Ulang.....	70
4.2.4 Keadaan Peralatan dan Proses Produksi Air Minum Isi Ulang	73
4.2.5 Kualitas Bakteriologi Dilihat Dari Jumlah Bakteri <i>Escherichia Coli</i>	76
4.2.6 Hubungan Antara Kondisi Sanitasi Depot, Kondisi Higiene Operator, Kondisi Alat dan Proses Produksi dengan Jumlah Bakteri <i>Escherichia coli</i>	77
BAB 5 PENUTUP	80
5.1 Kesimpulan.....	80
5.2 Saran.....	80
DAFTAR BACAAN	84
LAMPIRAN	84

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Persyaratan Kualitas Bakteriologi Air Minum	22
3.1 <i>Most Probable Number</i> (MPN) bakteri golongan <i>Coliform</i>	36
4.1 Distribusi Depot Berdasarkan keadaan sanitasi	44
4.2 Hasil Penilaian Sanitasi Setiap Depot Air Minum Isi Ulang.....	49
4.3 Distribusi Depot Berdasarkan Kehigienisan Operator	50
4.4 Hasil Penilaian Kehigienisan Operator yang Disesuaikan dengan Pedoman Ditjen P2PL Depkes RI Tahun 2006	53
4.5 Distribusi Depot Berdasarkan Kondisi Peralatan dan Proses Produksi	54
4.6 Hasil Penilaian Peralatan dan Proses Produksi yang Disesuaikan dengan Pedoman Ditjen P2PL Depkes Ri Tahun 2006	57
4.7 Distribusi Depot Air Minum Berdasarkan Karakteristik Penanggung Jawab	58
4.8 Hasil pemeriksaan jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i> air minum isi ulang	60
4.9 Distribusi Depot Air Minum Isi ulang Berdasarkan hasil Pemeriksaan Bakteriologi	62
4.10 Hasil analisis uji korelasi Pearson tentang hubungan keadaan sanitasi, kehygienisan operator, kondisi peralatan dan proses produksi dengan jumlah bakteri <i>Escherichia coli</i> (MPN) pada air minum isi ulang.....	61

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Rubrik Penilaian Pelaksanaan Higiene Sanitasi	84
A1. Sanitasi Depot Air minum	84
A2. Kehigienisan operator depot air minum	91
A2. Alat dan Proses Produksi	91
B. Lembar Wawancara Pengelola atau Pemilik	98
C. Data Penilaian Depot Air Minum	99
C1. Hasil Penilaian Sanitasi Depot Air minum	99
C2. Hasil Penilaian Kehigienisan Operator	101
C3. Hasil Penilaian Alat dan Proses Produksi	103
D. Hasil Pemeriksaan Jumlah Bakteri <i>Escherichia col</i>	105
E. Hasil Analisis Uji Korelasi SPSS	108
F. Dokumentasi Penelitian	111

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Air merupakan zat yang paling penting dalam kehidupan setelah udara (Chandra, 2006). Tanpa air, manusia tidak akan bisa bertahan hidup lama. Selain berguna untuk manusia, air pun diperlukan oleh makhluk lain misalnya hewan dan tumbuhan. Fungsi air bagi kehidupan tidak dapat digantikan oleh senyawa lain. Penggunaan air yang utama dan sangat vital bagi kehidupan adalah sebagai air minum. Hal ini untuk memenuhi kebutuhan air dalam tubuh (Notoadmodjo, 2003).

Air dalam tubuh manusia berkisar antara 50 – 70% dari seluruh berat badan. Pentingnya air bagi kesehatan dapat dilihat dari jumlah air yang ada di dalam organ, seperti 80% dari darah terdiri atas air, 25% dari tulang, 75% dari urat syaraf, 80% dari ginjal, 70% dari hati dan 75% dari otot adalah air. Kehilangan air untuk 15% dari berat badan dapat mengakibatkan kematian yang diakibatkan oleh dehidrasi. Karenanya orang dewasa perlu minum minimal sebanyak 1,5 – 2 liter sehari untuk keseimbangan dalam tubuh dan membantu proses metabolisme (Slamet, 2004).

Air bersih untuk kepentingan rumah tangga seperti untuk air minum, air mandi dan sebagainya harus memenuhi persyaratan yang sudah ditentukan peraturan Internasional (WHO dan APHA) ataupun peraturan nasional dan setempat. Dalam hal ini kualitas air bersih di Indonesia harus memenuhi persyaratan yang tertuang di dalam Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia dimana setiap komponen yang diperkenankan berada di dalamnya harus sesuai. Air yang dipergunakan oleh masyarakat untuk keperluan sehari-hari terutama untuk minum harus memenuhi persyaratan kesehatan untuk mencegah timbulnya penyakit atau gangguan yang disebabkan atau ditularkan melalui air. Di samping itu, air juga merupakan suatu sarana utama untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat, karena air merupakan salah satu media dari berbagai penularan penyakit. Bila air minum manusia itu berkualitas tidak baik, maka jelas akan mengganggu proses biokimiawi

tubuh dan mengakibatkan gangguan fungsionalnya (Azwar, 1996 dalam Chandra, 2006).

Sebagian besar kebutuhan air minum masyarakat selama ini dipenuhi dari air sumur dan juga air yang sudah diolah oleh Perusahaan Air Minum (PDAM). Air minum merupakan air yang melalui proses pengolahan ataupun tanpa proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum (Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 907, 2002).

Air tawar bersih untuk air minum semakin langka di perkotaan. Sungai-sungai yang menjadi sumbernya sudah tercemar berbagai macam limbah, mulai dari buangan sampah organik, rumah tangga hingga limbah beracun dari industri. Air tanah sudah tidak aman dijadikan air minum karena telah terkontaminasi rembesan dari *septic tank* maupun air permukaan. Hal inilah yang menjadi alasan mengapa air minum dalam kemasan (AMDK) yang disebut-sebut menggunakan air pegunungan banyak dikonsumsi (Widianti, 2004). Selain itu, seiring dengan makin majunya teknologi diiringi dengan semakin sibuknya aktivitas manusia maka masyarakat cenderung memilih cara yang lebih praktis untuk memenuhi kebutuhan air minum. Namun, harga AMDK dari berbagai merek yang terus meningkat membuat konsumen mencari alternatif baru yang lebih murah (Pracoyo, 2006).

Menurut Siswanto (2003) dalam Athena (2004), Masyarakat mulai beralih pada air minum isi ulang yang berasal dari depot air minum. Air minum ini lebih dikenal dengan air minum isi ulang karena masyarakat memperoleh air minum ini dengan cara mengisi galon yang dibawanya di depot air minum. Dilihat dari harganya, air minum isi ulang jauh lebih murah yaitu hanya sepertiga dari harga air minum dalam kemasan. Hal inilah yang menyebabkan air minum isi ulang bermunculan. Keberadaan depot air minum isi ulang terus meningkat sejalan dengan dinamika keperluan masyarakat terhadap air minum yang bermutu dan aman untuk dikonsumsi. Meski lebih murah, tidak semua depot air minum isi ulang terjamin keamanan produknya.

Hasil pengujian kualitas 120 sampel air minum isi ulang dari 10 kota besar (Jakarta, Bogor, Tangerang, Bekasi, Cikampek, Semarang, Yogyakarta, Surabaya, Medan, dan Denpasar) di Laboratorium Teknologi dan Manajemen Lingkungan, Departemen Teknologi Industri Pertanian, Institut Pertanian Bogor (IPB) pada tahun 2002, menunjukkan bahwa kualitas air minum yang diproduksi oleh depot air minum isi ulang bervariasi dari satu depot ke depot lainnya. Hal itu mengindikasikan bahwa ada perbedaan dalam karakteristik air baku, teknologi produksi, dan atau proses operasi dan pemeliharaan yang diterapkan di depot isi ulang. Hasil studi sempat menjadi perhatian publik karena pada beberapa sampel ditemukan adanya kontaminasi mikroorganisme. Sekitar 16% dari sampel tersebut terkontaminasi bakteri *Escherichia coli*, yang mengindikasikan buruknya kualitas sanitasi depot air minum isi ulang (Jamaluddin, 2007).

Air minum yang dihasilkan oleh depot air minum harus memenuhi persyaratan kesehatan sesuai dengan Keputusan Menteri Kesehatan RI No. 907 tahun 2002 tentang Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum. Tetapi untuk menjamin agar air minum yang dihasilkan aman dan sehat untuk dikonsumsi maka diperlukan upaya penyelenggaraan higiene sanitasi depot air minum. Higiene sanitasi depot air minum meliputi faktor tempat usaha, faktor tenaga sebagai operator dan faktor peralatan serta proses menjadi air minum (Depkes RI, 2006).

Hasil penelitian Asfawi (2004) tentang faktor yang berhubungan dengan kualitas bakteriologis air minum isi ulang di Semarang menunjukkan kondisi higiene pekerja depot air minum sebagian besar berada dalam kategori kurang yaitu sebanyak 21 orang (42,9%). Hal ini disebabkan karena pekerja tidak selalu mencuci tangan sebelum melayani konsumen. Sedangkan ditinjau dari kondisi sanitasi depot air minum terdapat 18 sampel (36,7%) yang tidak memenuhi persyaratan kesehatan. Hal ini dikarenakan antara lain depot air minum berada pada daerah pencemaran dan kondisi bangunan yang kotor.

Dinas kesehatan kesulitan untuk melaksanakan pengawasan depot air minum isi ulang disebabkan instansi ini bukan sebagai pemberi izin. Perizinan dikeluarkan

oleh Disperindag, sementara Dinas Kesehatan hanya sebagai pemberi rekomendasi (Johana, 2009). Masalah yang muncul akibat rendahnya mutu pengawasan adalah banyaknya depot air minum isi ulang yang tidak memenuhi syarat kesehatan. Berdasarkan keputusan menteri kesehatan definisi air minum adalah air yang bisa langsung diminum, sedangkan air minum isi ulang lebih tepat disebut air bersih atau air baku untuk minum yang harus diolah (dimasak) kembali hingga layak dikonsumsi. Ada beberapa penyebab air minum isi ulang terkontaminasi diantaranya bersumber dari air baku, wadah tempat distribusi tidak memenuhi standar higiene dan sanitasi depot air minum isi ulang, juga proses filtrasi dan desinfektan dengan teknologi yang rendah (Pitoyo, 2005).

Pemilik depot air minum merupakan orang yang paling bertanggung jawab dalam usaha depot air minum. Oleh karena itu, pemilik harus mengetahui higiene sanitasi depot air minum. Hal ini diperlukan agar pemilik depot air minum dapat lebih memahami dan menerapkan cara produksi yang baik, sehingga masyarakat tidak dirugikan oleh beredarnya air minum dari depot air minum yang tidak memenuhi persyaratan kesehatan. Pemilik juga harus melakukan pengawasan terhadap higiene sanitasi pada setiap tahap-tahap yang dianggap kritis sehingga dapat terjamin keamanan dan kelayakan air minum untuk dikonsumsi (Hesarika, 2009).

Keadaan sanitasi tempat bangunan dan proses pengolahan yang kurang memenuhi persyaratan kesehatan dapat menjadi sumber keberadaan bakteriologis pada depot air minum isi ulang (Suprihatin, 2003). Demikian pula dengan kebersihan galon air minum kemasan isi ulang yang sangat perlu untuk diperhatikan, karena dikhawatirkan pembersihan yang dilakukan tidak memadai. Jika pembersihan yang dilakukan tidak memenuhi syarat, kemungkinan terkontaminasi bakteri patogen akan lebih besar (Said dan Herlambang, 2002).

Menurut Volk, 1989 dalam Asfawi (2004) sanitasi air sangat penting terutama untuk air minum. Salah satu standart kebersihan dan kesehatan air diukur dengan adanya *Escherichia coli* sebagai mikroorganisme indikator. Kehadiran mikroorganisme indikator tersebut di dalam air merupakan bukti bahwa air tersebut

terpolusi oleh tinja dari manusia atau hewan dan berpeluang bagi mikroorganisme patogen untuk masuk ke dalam air tersebut. Pemantauan kualitas air minum isi ulang perlu dilakukan untuk mengontrol dan menjaga kualitas kesehatan masyarakat. Kandungan bakteri *Escherichia coli* yang terdapat di dalam produk air minum isi ulang tersebut yang dapat membahayakan kesehatan masyarakat (Effendi, 2003).

Menurut Peraturan Menteri Kesehatan No. 492/MENKES/PER/IV/2010, tentang Syarat-syarat dan Pengawasan Kualitas Air Minum, kandungan bakteri *Escherichia coli* dalam air minum tidak boleh lebih dari nol atau tidak ada tiap 100 ml sampel air. *Escherichia coli* adalah bakteri yang tergolong *Coliform* dan dapat hidup secara normal di dalam tinja manusia. Secara normal manusia setiap hari menghasilkan 100-150 gram berat kering tinja yang mengandung sel bakteri *Escherichia coli* antara $2,5 \times 10^{10}$ bakteri. Bakteri ini bersifat oportunistik, artinya bakteri ini tumbuh normal di dalam usus manusia, tetapi dalam batas-batas keadaan dan lingkungan tertentu dapat mendatangkan penyakit atau minimal gangguan kesehatan terhadap manusia (Suriawiria, 2005).

Penelitian terdahulu telah dilakukan terhadap kualitas air minum isi ulang di lingkungan Tegal Boto Kecamatan Sumpalsari Kabupaten Jember dengan parameter fisik, kimia dan biologi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada parameter fisik yaitu suhu dan parameter kimia yaitu *Total Dissolved Solid* (TDS) telah memenuhi standar baku mutu yang ditetapkan (Susilo, 2009), sedangkan parameter biologi (Bakteri *Escherichia coli*) tidak memenuhi standar baku mutu (Retnaningtyas, 2008). Hasil pengujian untuk parameter biologi menunjukkan bahwa air minum isi ulang yang diuji tidak memenuhi standar baku mutu yang telah ditetapkan (Retnaningtyas, 2008).

Dinamika keperluan masyarakat terhadap air minum yang bermutu dan aman untuk dikonsumsi mendorong penelitian mengenai “Hubungan Higiene Sanitasi Depot Air Minum Isi Ulang dengan Jumlah Bakteri *Escherichia Coli* dalam Air Minum Isi Ulang di Kecamatan Sumpalsari Kabupaten Jember”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Bagaimana hubungan keadaan sanitasi depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang?
- b. Bagaimana hubungan kehygienisan operator depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang?
- c. Bagaimana hubungan kondisi peralatan dan proses produksi depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang?

1.3 Batasan Masalah

Untuk mempermudah pemahaman dan mengurangi kerancuan dalam menafsirkan masalah yang terkandung di dalam penelitian ini, maka permasalahan dibatasi sebagai berikut:

- a. Pelaksanaan higiene sanitasi yang dimaksud meliputi sanitasi depot, higiene operator, alat dan proses produksi yang dilaksanakan di depot air minum isi ulang saat layanan konsumen yang disesuaikan dengan pedoman tersebut apakah telah memenuhi syarat atau tidak memenuhi syarat berdasarkan uraian pedoman.
- b. Penilaian sanitasi depot meliputi lokasi, keadaan ruangan, keadaan bangunan serta akses terhadap fasilitas sanitasi.
- c. Penilaian higiene operator meliputi kesehatan operator, kinerja/perilaku operator, surat keterangan kursus higiene sanitasi bagi operator dan pelaksanaan pemeriksaan kesehatan.
- d. Penilaian alat dan proses produksi meliputi keadaan peralatan, kelayakan peralatan dan proses produksi.
- e. Kualitas bakteriologi air minum yang diteliti adalah banyaknya *Escherichia coli* yang ditemukan pada air minum isi ulang dari hasil pemeriksaan laboratorium yang merupakan indikator pencemaran, sesuai dengan

- Permenkes RI No. 492/Menkes/PER/IV/2010. Bakteri *Escherichia coli* dikatakan terkandung dalam air minum isi ulang apabila ditemukan > 0 bakteri *Escherichia coli* dalam 100 ml sampel air minum isi ulang.
- f. Jumlah bakteri *Escherichia coli* dihitung dengan menganalisa tabung setelah melalui uji penegasan dan dicocokkan menggunakan tabel MPN (*The Most Probable Number*) tabel yang memberikan atau Jumlah Perkiraan Terdekat, yang tergantung dari kombinasi tabung positif (yang mengandung bakteri *Coli*) dan negatif (yang tidak mengandung bakteri *Coli*).
 - g. Pembuktian bakteri *Escherichia coli* pada sampel air minum berdasarkan identifikasi morfologi dan biokimia melalui tes indol, glukosa, sitrat dan methyl red.
 - h. Air minum isi ulang yang diteliti adalah air minum isi ulang yang diambil dari depot-depot air minum isi ulang.
 - i. Sampel air minum yang di uji adalah air minum yang telah dimasukkan kedalam botol.
 - j. Depot air minum yang diteliti hanya di wilayah kecamatan Sumpalsari sebanyak sembilan depot air minum isi ulang yang terletak di Jalan Sumatra, Jalan Riau, Jalan Jawa, Jalan Danau Toba 1, Jalan Danau Toba 2, Jalan S. Parman, Jalan Letjen Supratman, Perum Gunung Batu dan di Jalan Kaliurang.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Untuk mengetahui hubungan keadaan sanitasi depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang di Kecamatan Sumpalsari Kabupaten Jember;

- b. Untuk mengetahui hubungan kehygienisan operator yang bekerja di depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember;
- c. Untuk mengetahui hubungan kondisi peralatan dan proses produksi yang dilaksanakan di depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air minum isi ulang di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan memberikan manfaat antara lain ;

- a. Manfaat akademik, dapat menambah pengetahuan tentang pengujian kualitas air minum isi ulang.
- b. Manfaat bagi pemerintah, sebagai bahan masukan bagi Dinas Kesehatan Kota Jember agar lebih meningkatkan pembinaan dan pengawasan kualitas air yang digunakan pada depot air minum isi ulang.
- c. Manfaat bagi masyarakat, dapat memberikan informasi tentang kualitas air minum isi ulang dari depot air minum isi ulang di wilayah kecamatan Sumbersari kabupaten jember dan dapat menambah informasi bagi pengelola depot air minum isi ulang pentingnya higiene sanitasi pada depot air minum serta menjaga kualitas produk dengan menggunakan sumber air yang memenuhi persyaratan dari pemerintah.
- d. Manfaat bagi peneliti, sebagai masukan bagi peneliti lain untuk melakukan penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Air

Air merupakan senyawa kimia utama (dengan rumus H_2O) yang besar manfaatnya dalam kehidupan makhluk hidup. Air menutupi sekitar 70% dari permukaan bumi (Effendi, 2003). Hampir semua kegiatan yang dilakukan manusia membutuhkan air, mulai dari membersihkan diri (mandi), membersihkan ruangan tempat tinggalnya, menyiapkan makanan dan minuman sampai dengan aktivitas-aktivitas lainnya (Suriawiria, 2005).

Pengelompokan sumber air dibedakan menjadi 4 golongan, yaitu:

a. Golongan A

Yaitu air pada sumber air yang dapat digunakan sebagai air minum secara langsung tanpa pengolahan terlebih dahulu

b. Golongan B

Yaitu air yang dapat digunakan sebagai air baku mutu untuk diolah menjadi air minum dan keperluan rumah tangga lainnya

c. Golongan C

Yaitu air yang dapat dipergunakan untuk keperluan perikanan dan peternakan

d. Golongan D

Yaitu air yang dapat dipergunakan untuk keperluan pertanian dan dapat dimanfaatkan untuk Pembangkit Listrik Tenaga Air (PLTA) (Peraturan pemerintah RI No.20 tahun 1990 dalam Fikriyah, 2013).

Dalam jaringan hidup, air merupakan medium untuk berbagai reaksi dan proses ekskresi. Air merupakan komponen utama baik dalam tanaman maupun hewan termasuk manusia. Tubuh manusia terdiri dari 60-70% air. Transportasi zat-zat makanan dalam tubuh semuanya dalam bentuk larutan dengan pelarut air. Juga hara-hara dalam tanah hanya dapat diserap oleh akar dalam bentuk larutannya. Oleh karena itu kehidupan ini tidak mungkin dapat dipertahankan tanpa air (Achmadi, 2001).

Menurut Achmadi (2001), Air yang terdapat dipermukaan bumi ini dapat berasal dari berbagai sumber. Berdasarkan letak sumbernya, air dapat dibagi menjadi :

a. Air Angkasa (Hujan)

Air angkasa atau air hujan merupakan sumber utama air di bumi. Walaupun pada saat presipitasi merupakan air yang paling bersih, air tersebut cenderung mengalami pencemaran ketika berada di atmosfer. Pencemaran yang berlangsung di atmosfer itu dapat disebabkan oleh partikel debu, mikroorganisme, dan gas, misalnya, karbon dioksida, nitrogen dan amonia.

b. Air Permukaan

Air permukaan yang meliputi badan – badan air semacam sungai, danau, telaga, waduk, rawa, air terjun dan sumur permukaan, sebagian besar berasal dari air hujan yang jatuh ke permukaan bumi. Air hujan tersebut kemudian akan mengalami pencemaran baik oleh tanah, sampah, maupun lainnya.

c. Air Tanah

Air tanah (*groundwater*) berasal dari air hujan yang jatuh ke permukaan bumi yang kemudian mengalami perkolasi atau mengalami penyerapan ke dalam tanah dan mengalami proses filtrasi secara alamiah. Proses – proses yang telah dialami air hujan tersebut, di dalam perjalanannya ke bawah tanah, membuat air tanah menjadi lebih baik dan lebih murni dibandingkan air permukaan. Air tanah biasanya bebas dari kuman penyakit dan tidak perlu mengalami proses purifikasi atau penjernihan serta persediaannya cukup di sepanjang tahun, walaupun saat musim kemarau. Tetapi air tanah juga mengandung zat – zat mineral dalam konsentrasi yang tinggi seperti magnesium, kalsium, dan logam berat.

2.2 Air Minum

Penggunaan air yang utama dan vital bagi kehidupan adalah sebagai air minum (Winarno, 2003). Air minum merupakan air yang melalui proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum (Keputusan Menteri Kesehatan Nomor 907, 2002). Air minum sangat penting bagi kehidupan manusia.

Tubuh manusia dapat bertahan selama berminggu-minggu tanpa makanan, akan tetapi tanpa air, tubuh manusia hanya bisa bertahan beberapa hari saja (Retnaningtyas, 2008).

Tubuh manusia terdiri dari 65% air atau terdapat sekitar 4,7 liter air per orang dewasa. Setiap harinya, 2,5 liter dari jumlah air tersebut harus diganti dengan air baru karena air atau cairan tubuh manusia selalu berkurang akibat digunakan untuk segala aktivitas metabolisme tubuh. Diperkirakan air yang harus diganti tersebut 1,5 liter berasal dari air minum sedangkan 1 liter berasal dari makanan yang dikonsumsi (Jamaluddin, 2007).

Air minum memiliki banyak manfaat bagi tubuh manusia, diantaranya : Sebagai pelarut; Mengontrol suhu tubuh; Membawa oksigen dan sari-sari makanan keseluruh bagian tubuh kita sehingga semua sel dan organ tubuh dapat tetap hidup dan berfungsi dengan baik; Membawa sisa-sisa pembakaran tubuh termasuk racun-racun sehingga metabolisme tubuh berjalan dengan baik. Ini berarti semua zat yang ada didalam air minum ikut kedalam tubuh dan peredaran darah manusia (Mulia, 2005).

Air minum haruslah air yang bersih dan jernih, tidak berwarna dan tidak berbau serta tidak mengandung bahan tersuspensi (Nurwanto dan Djarijah, 1997 dalam Mulia, 2005). Air merupakan sarana utama untuk menjaga kesehatan masyarakat karena air merupakan salah satu media dari berbagai macam penularan penyakit (Sutrisno dan Suciastuti, 2002).

2.2.1 Syarat Kualitas Air Minum

Penyediaan air bersih, selain kualitasnya, kuantitasnya pun harus memenuhi standart yang berlaku. Untuk pengelolaan air minum, harus diperiksa kualitas airnya sebelum didistribusikan kepada masyarakat. Sebab, air baku belum tentu memenuhi standart, maka sering dilakukan pengolahan air untuk memenuhi standart air minum (Bambang, 2005).

Kualitas air yang digunakan sebagai air minum sebaiknya memenuhi persyaratan Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 492/Menkes/Per/IV/2010, meliputi :

a. Parameter wajib

1) Persyaratan Fisik

Air yang berkualitas baik harus memenuhi persyaratan fisik yaitu, tidak berasa, tidak berbau, dan tidak berwarna (maksimal 15 TCU), suhu udara maksimum $\pm 3^{\circ}\text{C}$, dan tidak keruh (maksimum 5 NTU)

2) Persyaratan mikrobiologi

Syarat mutu air minum sangat ditentukan oleh kontaminasi kuman *Escherichia coli* dan *Total Bakteri Coliform*, sebab keberadaan bakteri *Escherichia coli* merupakan indikator terjadinya pencemaran tinja dalam air. Standar kandungan *Escherichia coli* dan *Total Bakteri Coliform* dalam air minum 0 per 100 ml sampel.

b. Parameter Tambahan

1) Persyaratan Kimia

Air minum yang akan dikonsumsi tidak mengandung bahan – bahan kimia (organik, anorganik, pestisida dan desinfektan) melebihi ambang batas yang telah ditetapkan, sebab akan menimbulkan efek kesehatan bagi tubuh konsumen.

2) Persyaratan Radioaktivitas

Kadar maksimum cemaran radioaktivitas dalam air minum tidak boleh melebihi batas maksimum yang diperbolehkan

2.3 Depot Air Minum

2.3.1 Pengertian Depot Air Minum

Depot air minum adalah usaha industri yang melakukan proses pengolahan air baku menjadi air minum dan menjual langsung kepada konsumen (Depperindag, 2004). Proses pengolahan air pada prinsipnya harus mampu menghilangkan semua jenis polutan, baik fisik, kimia maupun mikrobiologi (Suprihatin, 2003)

2.3.2 Air Minum Isi Ulang (AMIU)

Menurut Asosiasi Pengusaha Air Minum Isi ulang (2003), air minum isi ulang (AMIU) adalah air olahan yang berasal dari sumber mata air yang disuplai oleh distributor melalui tangki-tangki menuju stasiun atau depot pengisian air minum dan

dipasarkan secara langsung pada konsumen. Umumnya, air ini disajikan kembali pada wadah galon bekas air minum dalam kemasan (AMDK).

Air minum isi ulang merupakan salah satu jenis air minum yang dapat langsung diminum tanpa dimasak terlebih dahulu, karena telah melewati beberapa proses tertentu. Merebaknya peluang usaha yang umumnya disebut sebagai depot air minum isi ulang tidak terlepas dari krisis yang dialami masyarakat Indonesia, sehingga masyarakat mencari alternatif lain dalam membangun suatu usaha dengan biaya relatif ringan tetapi cepat kembali modalnya, ataupun para konsumen air minum mengurangi biaya kebutuhan sehari-hari (Jamaluddin, 2007). AMIU mulai dikonsumsi masyarakat Indonesia pada awal tahun 2000 (Susilo, 2008). Air minum isi ulang tidak dapat disebut sebagai air minum dalam kemasan, karena pada umumnya penjual atau produsen air minum isi ulang tidak memiliki kemasan sendiri (Retnaningtyas, 2008).

Air minum isi ulang menjadi salah satu pilihan dalam memenuhi kebutuhan hidup masyarakat, karena selain lebih praktis (tidak perlu memasaknya terlebih dahulu) air minum ini juga dianggap lebih higienis (Johana, 2009). Tingginya minat masyarakat dalam mengonsumsi air minum dalam kemasan dan mahalnnya harga air minum dalam kemasan yang diproduksi industri besar mendorong tumbuhnya depot AMIU di berbagai tempat terutama kota-kota besar. Hal tersebut antara lain dari segi harganya AMIU lebih murah yaitu 1/3 dari harga air minum dalam kemasan yang diproduksi resmi industri besar, akan tetapi beberapa anggota masyarakat masih ragu akan hal kualitasnya sehingga dapat dikatakan aman untuk dikonsumsi (Aulia, 2012).

2.4 Higiene Sanitasi

2.4.1 Pengertian Higiene Sanitasi

Higiene adalah upaya kesehatan dengan cara memelihara dan melindungi kebersihan subjeknya seperti mencuci tangan dengan air bersih dan sabun untuk melindungi kebersihan tangan (Depkes RI, 2003). Higiene adalah suatu usaha

pengecahan penyakit yang menitik beratkan pada usaha kesehatan perorangan atau manusia beserta lingkungan tempat orang tersebut berada (Widyati,2002).

Sanitasi adalah upaya kesehatan dengan cara memelihara dan melindungi kebersihan lingkungan dari subyeknya. Misalnya menyediakan kamar mandi,air bersih,sabun untuk keperluan MCK, menyediakan tempat sampah untuk mewedahi sampah agar tidak dibuang sembarangan (Depkes RI, 2003).

Higiene dan sanitasi tidak dapat dipisahkan satu dengan yang lain karena erat kaitannya. Misalnya higiene sudah baik karena subyek mau mencuci tangan, tetapi sanitasinya tidak mendukung karena tidak tersedia air bersih dan sabun, maka mencuci tangan tidak sempurna (Depkes RI, 2003).

Higiene sanitasi yang dilakukan di depot air minum adalah usaha yang dilakukan untuk mengendalikan faktor-faktor yang menjadi penyebab terjadinya pencemaran air minum, penjamah, tempat dan perlengkapannya yang dapat atau mungkin dapat menimbulkan penyakit atau gangguan kesehatan lainnya (Purnowijayanti,2001).

2.4.2 Pedoman Pelaksanaan Sanitasi di Depot Air Minum

Menurut Depkes RI (2006), sanitasi depot air minum isi ulang meliputi:

a. Lokasi

Lokasi depot air minum harus berada didaerah yang berada bebas dari pencemaran lingkungan, Tidak pada daerah tergenang air dan rawa, tempat pembuangan kotoran dan sampah, penumpukan barang – barang bekas atau bahan berbahaya dan beracun (B3) dan daerah lain yang diduga dapat menimbulkan pencemaran terhadap air minum.

b. Bangunan

Bangunan harus kuat, aman dan mudah dibersihkan serta mudah pemeliharaannya, Tata ruang usaha depott air minum paling sedikit terdiri dari: Ruang proses pengolahan; Ruang tempat penyimpanan; Ruang tempat pembagian / penyediaan dan Ruang tunggu pengunjung.

c. Lantai

Lantai depott air minum harus memenuhi syarat yaitu; Bahan kedap air, Permukaan rata, halus tetapi tidak licin, tidak menyerap debu dan mudah dibersihkan, Kemiringannya cukup untuk memudahkan membersihkan, Selalu dalam keadaan bersih dan tidak berdebu.

d. Dinding

Dinding depott air minum harus memenuhi syarat yaitu; Bahan kedap air, Permukaan rata, halus, tidak menyerap debu dan mudah dibersihkan, Warna dinding terang dan cerah, Selalu dalam keadaan bersih, tidak berdebu dn bebas dari pakaian tergantung.

e. Atap dan Langit-langit bangunan

Atap bangunan harus halus, menutup sempurna dan tahan terhadap air dan tidak bocor, Konstruksi atap dibuat anti tikus (rodent proof), Bahan langit – langit mudah dibersihkan dan tidak menyerap debu, Permukaan langit – langit harus rata dan berwarna terang, Tinggi langit – langit minimal 2,4 meter dari lantai.

f. Pintu

Bahan pintu harus kuat dan tahan lama, Pemasangannya rapi sehingga dapat menutup dengan baik, Permukaan rata, halus, berwarna terang dan mudah dibersihkan.

g. Pencahayaan

Ruangan pengolahan dan penyimpanan mendapat penyinaran cahaya yang baik.

h. Ventilasi

Untuk kenyamanan depott air minum harus diatur ventilasi yang dapat menjaga suhu yang nyaman dengan cara: Menjamin terjadi peredaran udara dengan baik, Tidak mencemari proses pengolahan dan atau air minum, Menjaga suhu tetap nyaman dan sesuai kebutuhan.

i. Akses Terhadap Fasilitas Sanitasi

Depot air minum sedikitnya harus memiliki akses terhadap fasilitas sanitasi yaitu : Tempat cuci tangan yang dilengkapi dengan sabun pembersih dan saluran limbah, Fasilitas sanitasi (jamban dan peturasan), Tempat sampah yang memenuhi persyaratan dan menyimpan contoh air minum yang dihasilkan sebagai sampel setiap pengisian air baku.

j. Sarana Pengolahan Air Minum

Alat dan perlengkapan yang dipergunakan untuk pengolahan air minum harus menggunakan peralatan yang sesuai dengan persyaratan kesehatan (food grade), antara lain : Pipa pengisian air baku, Tandon air baku, Pompa penghisap dan penyedot, Filter, Mikro Filter, Kran pengisian air minum curah, Kran pencucian/pembilasan botol, Kran penghubung (hose) dan Peralatan sterilisasi.

k. Proses pencucian botol

Disediakan oleh pengusaha/pengelola depott air minum. Setiap wadah yang telah diisi harus ditutup dengan penutup wadah yang saniter. Setiap air minum yang telah diisi harus langsung diberikan kepada pelanggan, dan tidak boleh disimpan di depott air minum (> 1x24 jam).

2.4.3 Higiene Operator di Depot Air Minum

Operator atau karyawan harus sehat dan bebas dari penyakit menular. Bebas dari luka, bisul, penyakit kulit dan luka lain yang dapat menjadi sumber pencemaran. Dilakukan pemeriksaan kesehatan secara berkala (minimal 2 kali setahun). Memakai pakaian kerja/seragam yang bersih dan rapi, selalu mencuci tangan setiap kali melayani konsumen. Tidak berkuku panjang, merokok, meludah, menggaruk, mengorek hidung/telinga/gigi pada waktu melayani konsumen dan memiliki surat keterangan telah mengikuti kursus operator depot air minum (Depkes RI, 2006).

2.4.4 Peralatan Depot Air Minum

Menurut Depperindag (2004), Alat yang digunakan untuk mengolah air baku menjadi air minum pada depot air minum isi ulang adalah :

a. Storage Tank

Storage tank berguna sebagai penampungan air baku yang dapat menampung air sebanyak 3000 liter.

b. Stainless Water Pump

Stainless Water Pump berguna sebagai pemompa air baku dari tempat storage tank kedalam tabung filter

c. Tabung Filter

Tabung Filter mempunyai 3 (tiga) fungsi, yaitu :

- 1) Tabung yang pertama adalah *active sand media filter* untuk menyaring partikel – partikel yang kasar dengan bahan dari pasir atau jenis lain yang efektif dengan fungsi yang sama.
- 2) Tabung yang kedua adalah *anthracite filter* yang berfungsi untuk menghilangkan kekeruhan dengan hasil yang maksimal dan efisien.
- 3) Tabung yang ketiga adalah *granular active carbon media filter* merupakan karbon filter yang berfungsi sebagai penyerap debu, rasa, warna, sisa khlor dan bahan organik.

d. Mikro Filter

Mikro Filter merupakan saringan yang terbuat dari *polypropylene* yang berfungsi untuk menyaring partikel air dengan diameter 10 mikron, 5 mikron, 1 mikron dan 0,4 mikron dengan maksud untuk memenuhi persyaratan air minum.

e. Flow Meter

Flow Meter digunakan untuk mengukur air yang mengalir kedalam galon isi ulang.

f. Lampu ultraviolet dan ozon

Lampu ultraviolet dan ozon berguna sebagai desinfeksi pada air yang telah diolah.

g. Galon isi ulang

Galon isi ulang berfungsi sebagai wadah atau tempat untuk menampung atau menyimpan air minum didalamnya. Pengisian wadah dilakukan dengan

menggunakan alat dan mesin serta dilakukan dalam tempat pengisian yang higienis.

2.4.5 Proses Produksi di Depot Air Minum

Urutan proses produksi di Depot Air Minum Isi Ulang menurut Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan RI No. 651/MPP/Kep/10/2004 tentang persyaratan Teknis Depot Air Minum dan Perdaganganannya, yaitu :

a. Penampungan air baku dan syarat bak penampung

Air baku yang diambil dari sumbernya diangkut dengan menggunakan tangki dan selanjutnya ditampung dalam bak atau tangki penampung (*reservoir*). Bak penampung harus dibuat dari bahan tara pangan (*food grade*) seperti stainless steel, poly carbonat atau poly vinyl carbonat, harus bebas dari bahan – bahan yang dapat mencemari air. Tangki pengangkutan mempunyai persyaratan yang terdiri atas ; Khusus digunakan untuk air minum, Mudah dibersihkan serta di desinfektan dan diberi pengaman, Pengisian dan pengeluaran air harus melalui keran, Selang dan pompa yang dipakai untuk bongkar muat air baku harus diberi penutup yang baik, disimpan dengan aman dan dilindungi dari kemungkinan kontaminasi.

Tangki galang, pompa dan sambungan harus terbuat dari bahan tara pangan (*food grade*) seperti stainless steel, poly carbonat atau poly vinyl carbonat, tahan korosi dan bahan kimia yang dapat mencemari air. Tangki pengangkutan harus dibersihkan dan desinfeksi bagian luar minimal 3 (tiga) bulan sekali (Asmadi, 2011). Air baku harus diambil sampelnya, yang jumlahnya cukup mewakili untuk diperiksa terhadap standart mutu yang telah ditetapkan oleh Menteri Kesehatan.

b. Penyaringan bertahap terdiri dari :

Saringan berasal dari pasir atau saringan lain yang efektif dengan fungsi yang sama. Fungsi saringan pasir adalah menyaring pertikel – partikel yang kasar. Bahan yang dipakai adalah *butir – butir silica (SiO₂)* minimal 80 %.

Saringan karbon aktif yang berasal dari batu bara atau batok kelapa berfungsi sebagai penyerap bau, rasa, warna, sisa khlor dan bahan organik. Daya serap terhadap *Iodine (I₂)* minimal 75%.

Saringan / Filter lainnya yang berfungsi sebagai saringan halus berukuran maksimal 10 (sepuluh) mikron.

c. Desinfeksi

Desinfeksi dimaksudkan untuk membunuh kuman patogen. Proses desinfeksi dengan menggunakan *ozon (O₃)* berlangsung dalam tangki atau alat pencampur ozon lainnya dengan konsentrasi ozon minimal 0,1 ppm dan *residu ozon* sesaat setelah pengisian berkisar antara 0,06 – 0,1 ppm. Tindakan desinfeksi selain menggunakan ozon, dapat dilakukan dengan cara penyinaran *Ultra Violet (UV)* dengan panjang gelombang 254 nm atau kekuatan 2537 0 A dengan intensitas minimum 10.000 mw detik per cm².

Menurut Johana (2009), Proses desinfeksi merupakan upaya yang dilakukan untuk menghilangkan atau membunuh bakteri dalam air minum, yang dilakukan dengan 2 (dua) cara, yaitu:

1) Ozonisasi

Ozon termasuk oksidan kuat yang mampu membunuh kuman patogen, termasuk virus. Keuntungan penggunaan ozon adalah pipa, peralatan dan kemasan akan ikut di sanitasi sehingga produk yang dihasilkan akan lebih terjamin selama tidak ada kebocoran pada kemasan. Ozon merupakan bahan sanitasi air yang efektif di samping sangat aman.

Agar pemakaian ozon dapat dihemat, yaitu hanya ditujukan untuk membunuh bakteri – bakteri saja, maka sebelum dilakukan proses desinfeksi, air tersebut perlu dilakukan penyaringan agar zat – zat organik, besi dan mangan yang terkandung dalam air dapat dihilangkan. Ozon bersifat bakterisida, virusida, algasida serta mengubah senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang sederhana.

2) Reverse Osmosis

Proses ini merupakan proses pemurnian air dengan hasil kualitas air non mineral. Proses ini melalui alat yang disebut *Membran semi permeabel*, membran ini mempunyai lubang air 1/10000 mikron dimana air yang melewati lubang tersebut sudah merupakan air bebas mineral bakteri, virus dan logam-logam berat lainnya.

d. Pembilasan, Pencucian dan Sterilisasi Wadah

Wadah yang dapat digunakan adalah wadah yang terbuat dari bahan tara pangan (*food grade*) seperti stainless stell, poly carbonat atau poly vinyl carbonat dan bersih. Depot air minum wajib memeriksa wadah yang dibawa konsumen, dan menolak wadah yang dianggap tidak layak untuk digunakan sebagai tempat air minum. Wadah yang akan diisi harus di sanitasi dengan menggunakan ozon (O_3) atau air ozon (air yang mengandung ozon). Bilamana dilakukan pencucian maka harus dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis deterjen tara pangan (*food grade*) dan air bersih dengan suhu berkisar 60 – 85°C, kemudian dibilas dengan air minum atau air produk secukupnya untuk menghilangkan sisa – sisa deterjen yang dipergunakan untuk mencuci.

e. Pengisian

Pengisian wadah dilakukan dengan menggunakan alat dan mesin serta dilakukan dalam tempat pengisian yang higienis

f. Penutupan

Penutupan wadah dapat dilakukan dengan tutup yang dibawa konsumen atau yang disediakan oleh Depot Air Minum.

2.5. Mikroorganisme dalam Air

Mikroorganisme dalam air berasal dari berbagai sumber seperti udara, tanah, sampah, lumpur, tanaman hidup atau mati, hewan hidup atau mati, kotoran manusia atau hewan, dan bahan organik lainnya (Nuria, 2009). Air dapat berperan sebagai medium pembawa mikroorganisme patogen yang berbahaya bagi kesehatan. Air yang dianggap jernih misal yang bersal dari sumur biasa, sumur pompa, sumber mata air dan sebagainya di dalamnya juga terkandung sejumlah kehidupan yaitu:

1) Kelompok bakteri besi

Bakteri yang mampu mengoksidasi senyawa ferro menjadi ferri. Akibat kehadiran bakteri ini, air sering berubah warna apabila disimpan lama yaitu kehitam-hitaman atau kecoklat-coklatan.

2) Kelompok bakteri belerang

Bakteri yang mampu mereduksi senyawa sulfat menjadi H_2S . Akibatnya kalau air disimpan lama akan tercium bau busuk.

3) Kelompok mikroalgae

Berbagai mikroalgae dalam air yang dibuktikan dengan jika air disimpan lama akan tampak jasad-jasad yang berwarna hijau, biru atau kekuning-kuningan.

4) Kelompok bakteri pencemar

Kelompok bakteri ini misalnya bakteri golongan *coliform*. Akibat kehadiran bakteri ini dalam badan air maka dikatakan bahwa air tersebut terkena pencemaran fekal (Burrows, 1961 dalam Herwityastika, 2007).

Berdasarkan asal dan sifatnya, kelompok bakteri pencemar di air dibagi menjadi 2 golongan yaitu :

a. *Coliform* fecal

Bakteri *Coliform* fecal merupakan bakteri yang hidup sebagai flora normal disaluran usus manusia, sehingga banyak ditemukan pada kotoran manusia maupun hewan berdarah panas. Salah satu bakteri yang tergolong *Coliform* fecal yaitu *Eschericia coli* yang termasuk dalam family *Enterobacteriaceae* (Prasetyo, 2012). Dalam satu gram kotoran manusia terdapat sekitar seratus juta bakteri *Eschericia coli* (Entjang, 2001 dalam Hendri, 2007).

Bakteri coliform ini bersifat fakultatif anaerob. Bakteri ini tumbuh baik pada media yang mengandung garam ammonium dan sumber organik seperti glukosa. Pertumbuhan terjadi pada suhu antara $10^{\circ}C$ sampai $46^{\circ}C$ sedang pertumbuhan baik pada suhu $20^{\circ}C$ sampai $40^{\circ}C$ dan suhu optimum yaitu $37^{\circ}C$ (Irianto, 2006).

Eschericia coli merupakan kuman berbentuk batang pendek (kokobasil), gram negatif, berukuran $0,4-0,7 \mu m \times 1,4 \mu m$, sebagian besar gerak positif dan beberapa strain mempunyai kapsul. Bakteri ini pada biakan akan membentuk koloni yang bundar, cembung halus dengan tepi yang nyata. *Eschericia coli* dapat meragikan laktosa pada suhu $37^{\circ}C$ dengan membentuk asam dan gas dalam waktu 48 jam selain itu beberapa strain menyebabkan hemolisis pada agar darah (Syahrurachman, 1993

dalam Herwityastika, 2007). Bakteri *Eschericia coli* tumbuh pada media EMB agar (*Eosin Methylen Broth*) (Prasetyo, 2012). *Eschericia coli* merupakan bakteri yang mengakibatkan diare ringan sampai berat karena bakteri ini melakat padasel epitel usus halus atau usus besar. Khusus pada bayi, dapat menyebabkan *Travellers diarrhea* (Ferawati, 2003).

b. *Coliform* nonfecal

Spesies *Enterobacter aerogenes* disebut sebagai *Coliform* non fecal karena bukan merupakan flora normal dari saluran pencernaan, melainkan ditemukan pada tanaman atau hewan yang telah mati dan sering menimbulkan lendir pada makanan. Bakteri ini tidak dapat membentuk gas dari laktosa pada suhu $44,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (Yustisia, 2008).

Adanya bakteri *Coliform* pada air atau makanan menunjukkan bahwa dalam satu atau lebih tahap pengolahan air atau makanan pernah mengalami kontak langsung dengan feses yang berasal dari usus manusia dan oleh karenanya mungkin mengandung bakteri patogen lain yang berbahaya (Dewanti dan Hariadi, 2003).

2.6. Persyaratan Kualitas Bakteriologi Air Minum

Berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor : 907/MENKES/SK/VII/2002, kadar maksimum bakteri *Coliform* dan *E.coli* yang diperbolehkan terkandung dalam air minum adalah 0 per 100 ml sampel.

Tabel 2.1 Persyaratan Kualitas Bakteriologi Air Minum menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor : 907/MENKES/SK/VII/2002

Parameter	Satuan	Kadar Maksimum yang diperbolehkan
Bakteri <i>Coliform</i>	Jumlah per 100 ml sampel	0
Bakteri <i>E.coli</i>	Jumlah per 100 ml sampel	0

2.7 Bakteri *Escherichia coli*

2.7.1 Definisi dan Morfologi bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* merupakan spesies dengan habitat alami dalam saluran pencernaan manusia maupun hewan. *E. coli* pertama kali diisolasi oleh Theodor Escherich dari tinja seorang anak kecil pada tahun 1885. Bakteri ini berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 x 1,0-3,0 μm , termasuk gram negatif, dapat hidup soliter maupun berkelompok, umumnya motil, tidak membentuk spora, serta fakultatif anaerob (Ferawati, 2003).

Struktur sel *E. coli* dikelilingi oleh membran sel, terdiri dari sitoplasma yang mengandung nukleoprotein. Membran sel *E. coli* ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul. Flagela dan pili *E. coli* menjulur dari permukaan sel (Irianto, 2006). Tiga struktur antigen utama permukaan yang digunakan untuk membedakan serotipe golongan *E. coli* adalah dinding sel, kapsul dan flagella (Ferawati, 2003).

2.7.2 Sifat – sifat *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* dapat membentuk koloni pada saluran pencernaan manusia maupun hewan dalam beberapa jam setelah kelahiran. Faktor predisposisi pembentukan koloni ini adalah mikroflora dalam tubuh masih sedikit, rendahnya kekebalan tubuh, faktor stres, pakan, dan infeksi agen patogen lain. Kebanyakan *E. coli* memiliki virulensi yang rendah dan bersifat oportunistis (Athena, 2004). *E. coli* keluar dari tubuh bersama tinja dalam jumlah besar serta mampu bertahan sampai beberapa minggu. Kelangsungan hidup dan replikasi *E. coli* di lingkungan membentuk koliform. *E. coli* tidak tahan terhadap keadaan kering atau desinfektan biasa. Bakteri ini akan mati pada suhu 60 °C selama 30 menit (Marzuki, 2013).

E. coli bersifat patogen karena dapat menyebabkan infeksi pada manusia dan hewan. Seorang bakteriolog yaitu Theodor Escherich, mengidentifikasi *E. coli* dari babi yang menderita enteritis. Enteritis merupakan peradangan usus yang bisa menyebabkan sakit perut, mual, muntah, dan diare baik manusia maupun hewan. *E. coli* merupakan bakteri yang bisa hidup pada lingkungan yang berbeda. Bakteri ini dapat ditemukan di tanah, air, tanaman, hewan, dan manusia (Marzuki, 2013). Spesies

terpenting dari genus *Eschericia* ialah *E. coli*. *E. Coli* merupakan famili Enterobacteriaceae yang termasuk bakteri enterik. Bakteri enterik ialah bakteri yang bisa bertahan di dalam saluran pencernaan termasuk sruktur saluran pencernaan rongga mulut, esofagus, lambung, usus, rektum, dan anus. *E. coli* bisa hidup sebagai bakteri aerob maupun bakteri anaerob. Oleh karena itu, *E. coli* dikategorikan sebagai anaerob fakultatif (Ferawati, 2003).

E. coli merupakan bakteri Gram negatif dan tidak berbentuk spora. *E. coli* bersifat katalase positif, oksidasi negatif, dan fermentatif. *E. coli* termasuk bakteri mesofilik dengan suhu pertumbuhannya dari 7 °C sampai 50 °C dan suhu optimum sekitar 37 °C. *E. coli* dapat tumbuh pada pH 4-9 dengan aktivitas air 0.935. Laju pertumbuhan *E. coli* yaitu 25 jam/generasi pada suhu 8 °C (Ferawati, 2003).

2.7.3 Klasifikasi bakteri *Escherichia coli*

Domain	: <i>Bakteri</i>
Kingdom	: <i>Morena</i>
Devisi	: <i>Eubacteria</i>
Class	: <i>Proteobacteria</i>
Ordo	: <i>Enterobacteriales</i>
Family	: <i>Enterobacteriaceae</i>
Genus	: <i>Escherichia</i>
Species	: <i>Escherichia coli</i>

2.7.4 Cara pemeriksaan bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* tumbuh pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB). Apabila *Escherichia coli* tumbuh di media ini akan menimbulkan warna metalik karena asam yang dihasilkan akibat fermentasi laktosa akan membuat zat warna eosin dan methylen blue mengadakan presipitasi pada permukaan agar (Suswati, 2006).

Bakteri *Escherichia coli* pada biakan, akan membentuk koloni yang bundar, cembung. *Escherichia coli* dapat meragikan glukosa pada suhu 37°C dengan membentuk asam dan gas dalam waktu 48 jam. *Escherichia coli* secara khas memberi hasil positif pada tes indol, methyl red dan membentuk gas dari glukosa serta tidak terdapat perubahan pada tes sitrat (Jawetz, 1996 dalam Retnaningtyas, 2008).

2.8 Uji Mikrobiologi Air

Uji mikrobiologi adalah tes untuk mendeteksi adanya sejenis bakteri dan sekaligus menaksir konsentrasinya (Alaerts, 1984 dalam Prasetyo, 2012). Pada prinsipnya tujuan uji mikrobiologi air ini adalah untuk mengetahui ada tidaknya mikroorganisme patogen. Akan tetapi dalam prakteknya jarang ditemukan *Shigella*, *Salmonella*, atau *Vibrio* dari contoh air yang sedang diselidiki. Oleh karena itu uji mikrobiologi air ini didasarkan atas ada tidaknya bakteri dari golongan kolon saja. Bakteri kolon ini misalnya *E. Coli* (Dwidjoseputro, 1987 dalam Harwityastika, 2007).

Pelaksanaan analisis dilakukan berdasarkan modifikasi dari metoda yang didapat dalam Standard Method Modern Methods in the Study of Microbiology, Isolation Methods for Microbiology. Ada tiga metode yang tersedia yaitu Standart Plate Count (SPC), metode dengan tabung fermentasi (juga disebut metode MPN) dan metode penyaringan membran (Alaerts, 1984 dalam Prasetyo, 2012).

2.8.1 Pengujian Bakteri *Escherichia coli*

Untuk mengetahui apakah dalam air minum terkandung bakteri *E. Coli*, perlu dilakukan pengujian. Adapun pengujian bakteri *E. Coli* terdiri dari beberapa tahap, yaitu :

1) Uji Penduga

Merupakan tes pendahuluan tentang kehadiran bakteri *E. Coli* berdasar pada terbentuknya asam dan gas disebabkan karena fermentasi laktosa oleh bakteri golongan *Coli*. Pengujian ini untuk mengetahui angka dugaan tertinggi (*Most Probable Number*) bakteri *E. Coli* tiap 100 ml contoh air. Pada pengujian ini terdapat tiga kelompok tabung reaksi yang berisi medium cair laktosa dan tabung Durham (tabung kecil yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan mulut tabung menghadap ke bawah) (Suswati dkk., 2006).

Kemudian diinkubasikan selama ± 24 jam. Apabila inkubasi 1 x 24 jam hasilnya negatif, dilanjutkan dengan inkubasi 2 x 24 jam pada suhu 37°C. Kehadiran bakteri *E. Coli* berdasar pada terbentuknya asam dan gas disebabkan karena

fermentasi laktosa oleh kekeruhan pada media laktosa, dan gas yang disebabkan fermentasi laktosa oleh bakteri golongan *Coli*. Terbentuknya asam dilihat dari kekeruhan pada media laktosa dan gas yang dihasilkan dapat dilihat dalam tabung Durham berupa gelembung udara. Tabung dinyatakan positif apabila terbentuk gas sebanyak 10% atau lebih dari volume di dalam tabung Durham (Dwidjoseputro, 1994 dalam Widianti, 2004).

2) Uji Penguat

Hasil uji dugaan dilanjutkan dengan uji penguat. Hasil uji penduga yang positif ditanam pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB). Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada media EMB, koloni *Eschericia coli* menunjukkan kilat logam (*metallic sheen*) sedangkan koloni *Enterobacter aerogenes* berwarna merah muda dengan bintik hitam ditengah (Suswati, 2006).

Media *Eosin Methylen Blue* (EMB) ini mengandung zat warna eosin dan methylen blue dan juga laktosa. Medium ini dapat membedakan bakteri yang memfermentasikan laktosa dan yang tidak dapat memfermentasikan laktosa. Apabila *Eschericia coli* tumbuh di media EMB akan menimbulkan warna kilat logam (*metallic sheen*) karena asam yang dihasilkan akibat fermentasi laktosa akan membuat zat warna *eosin* dan *methylen Blue* mengadakan presipitasi pada permukaan agar (Suswati, 2006).

3) Uji Pelengkap

Diambil suspensi dari suatu koloni kecil dari cawan petri dari hasil uji penguat yang dinyatakan positif. Kemudian ditanam pada medium cair yang mengandung laktosa, dan juga ditanam secara goresan pada medium *Nutrient Agar* (NA) miring. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, koloni yang tumbuh dilakukan pewarnaan Gram. Bakteri *Eschericia coli* akan menunjukkan Gram negatif berbentuk batang pendek (Ferdiaz, 1992 dalam Suswati, 2006).

2.8.2 Teknik Perhitungan Jumlah Bakteri

Teknik perhitungan jumlah bakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu : perhitungan pada cawan petri (total plate count) TPC; perhitungan melalui

pengenceran; perhitungan jumlah terkecil atau terdekat (MPN); dan calorimeter (cara kekeruhan).

Metode MPN terdiri dari tiga tahap, yaitu uji pendugaan (*presumptive test*), uji konfirmasi (*confirmed test*), dan uji kelengkapan (*completed test*). Dalam uji tahap pertama, keberadaan coliform masih dalam tingkat probabilitas rendah; masih dalam dugaan. Uji ini mendeteksi sifat fermentatif coliform dalam sampel (Dwidjoseputro, 1994).

Metode MPN digunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan pada jumlah tabung yang positif yaitu yang ditumbuhi oleh jasad renik setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, atau timbulnya gas di dalam tabung kecil (tabung Durham) yang diletakkan pada posisi terbalik, yaitu untuk jasad renik pembentukan gas. Media pada tabung adalah *Lactose Broth* yang diberi indikator perubahan pH dan ditambah tabung durham. Metode MPN ini umumnya digunakan untuk menghitung jumlah bakteri pada air khususnya untuk mendeteksi adanya bakteri koliform yang merupakan kontaminan utama sumber air minum. Sampel ditumbuhkan pada seri tabung sebanyak 3 atau 5 buah tabung reaksi untuk setiap kelompok. Apabila dipakai 3 tabung maka disebut seri 3, dan jika dipakai 5 tabung maka disebut 5 seri (Fardiaz, 1992).

Asumsi yang diterapkan dalam metode MPN adalah bakteri terdistribusi sempurna dalam sampel, sel bakteri terpisah-pisah secara individual, tidak dalam bentuk rantai atau kumpulan (bakteri coliform termasuk *E. coli* terpisah sempurna tiap selnya dan tidak membentuk rantai), media yang dipilih telah sesuai untuk pertumbuhan bakteri target dalam suhu dan waktu inkubasi tertentu sehingga minimal satu sel hidup mampu menghasilkan tabung positif selama masa inkubasi tersebut, jumlah yang didapatkan menggambarkan bakteri yang hidup saja. Sel yang terluka dan tidak mampu menghasilkan tabung positif tidak akan terdeteksi.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah survei yang bersifat deskriptif yaitu dengan melihat pelaksanaan higiene sanitasi berupa pengamatan kondisi sanitasi depot, kondisi higiene operator, kondisi alat dan proses produksi di depot air minum dan analisis laboratorium untuk mengetahui jumlah bakteri *Escherichia coli* dari air minum isi ulang yang diperoleh dari depot air minum isi ulang di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember Tahun 2014.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Pendidikan Biologi dan sembilan depot air minum isi ulang di wilayah Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember pada bulan Juli 2014.

3.3. Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua usaha depot air minum dan pengelola yang terdapat di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember yang berjumlah 19 depot.

3.3.2 Sampel

Besar sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan rumus Taro Yamane yang dikutip dalam Firdaus (2008), yaitu :

$$n = \frac{N}{N \cdot d^2 + 1}$$

Keterangan :

n = Jumlah Sampel

N = Jumlah Populasi

d² = Presisi yang ditetapkan

Tingkat presisi yang ditetapkan adalah 25% pemilihan presisi 25% berdasarkan pertimbangan keterbatasan dan kemampuan penelitian, baik dari segi waktu, tenaga maupun biaya, maka didapatkan jumlah besar sampel adalah :

$$n = \frac{N}{N \cdot d^2 + 1}$$

$$n = \frac{19}{19 \cdot 0,25^2 + 1}$$

$$n = \frac{19}{(19) \cdot (0,0625) + 1}$$

$$n = \frac{19}{2,1875}$$

$$n = 8,6 = 9 \text{ depot air minum isi ulang.}$$

Penentuan sampel menggunakan teknik sampel acak sederhana (*Simple Random Sampling*). Dikatakan sederhana karena pengambilan sampel anggota populasi dilakukan secara acak tanpa memperhatikan strata yang ada dalam populasi. Metode pengambilan sampel acak sederhana adalah metode yang digunakan untuk memilih sampel dari populasi dengan cara demikian rupa, sehingga setiap anggota populasi mempunyai peluang yang sama besar untuk diambil sebagai sampel. Ini berarti semua anggota populasi menjadi anggota dari kerangka sampel (Firdaus, 2008).

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara pengendalian nama-nama individu yang ada dalam kerangka sampel. Dalam hal ini, masing-masing nama dari anggota populasi ditulis pada selembar kertas kecil kemudian digulung dan ditempatkan dalam sebuah wadah, selanjutnya di undi hingga mendapatkan jumlah sampel sesuai jumlah yang ditentukan, yaitu 9 sampel.

Di bawah ini adalah daftar kode masing-masing sampel air yang digunakan pada penelitian.

A = Sampel air minum isi ulang di Jalan Sumatra

B = Sampel air minum isi ulang di Jalan Riau

C = Sampel air minum isi ulang di Jalan Jawa

D = Sampel air minum isi ulang di Jalan Danau Toba 1

E = Sampel air minum isi ulang di Jalan Danau Toba 2

F = Sampel air minum isi ulang di Jalan S. Parman

G = Sampel air minum isi ulang di Jalan Letjen Supratman

H = Sampel air minum isi ulang di Perum Gunung Batu

I = Sampel air minum isi ulang di Jalan Kaliurang

3.4. Metode Pengumpulan Data

3.4.1 Data Primer

Data primer diperoleh dengan observasi langsung menggunakan lembar observasi (lampiran A) untuk memeriksa sanitasi depot, higiene operator serta keadaan alat dan proses produksi yang dilaksanakan di depot air minum berdasarkan Pedoman Pelaksanaan Penyelenggaraan Higiene Sanitasi Depot Air Minum, Ditjen P2PL Depkes RI Tahun 2006. Data primer yang kedua adalah data yang diperoleh dari hasil pemeriksaan sampel di laboratorium mengenai jumlah bakteri *Escherichia coli* yang terkandung dalam air minum isi ulang.

3.4.2 Data Sekunder

Data sekunder adalah data yang diperoleh dari hasil wawancara menggunakan lembar wawancara (lampiran B) mengenai pengetahuan higiene sanitasi pemilik atau pengelola serta dokumen-dokumen depot air minum tentang surat keterangan layak higiene sanitasi dari Dinas Kesehatan Kabupaten Jember, Surat tanda izin usaha, Surat jaminan pasok air baku dari PDAM atau dari perusahaan yang memasok air baku, dan surat hasil uji air minum yang dihasilkan dari laboratorium pemeriksaan kualitas air yang ditunjuk oleh Pemerintah Kabupaten/Kota.

3.5. Definisi Operasional variabel

3.5.1 Variabel Bebas dan Parameternya

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pelaksanaan higiene sanitasi berupa hasil pengamatan kondisi sanitasi depot, kondisi higiene operator, kondisi alat dan proses produksi di Depot air minum isi ulang.

3.5.2 Variabel Terikat dan Parameternya

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah bakteri *Escherichia coli* dari air minum isi ulang yang diuji.

3.5.3 Definisi Operasional

- a. Depot air minum adalah suatu usaha yang melakukan proses pengolahan air baku menjadi air minum dan menjual langsung kepada konsumen.
- b. Higiene sanitasi depot air minum adalah usaha yang dilakukan untuk mengendalikan faktor – faktor pencemaran air minum, penjamah, tempat dan perlengkapannya yang dapat atau mungkin dapat menimbulkan penyakit atau gangguan kesehatan lainnya.
- c. Pemeriksaan *Escherichia coli* adalah pemeriksaan koloni *Escherichia coli* dalam air minum isi ulang secara laboratorium yang merupakan indikator pencemaran dalam air minum tersebut. Memenuhi syarat bakteriologis, jika *Escherichia coli* dalam air minum isi ulang tersebut sesuai dengan Permenkes RI No. 492/Menkes/PER/IV/2010, yaitu 0 dalam 100 ml sampel. Apabila 0 dalam 100 ml sampel (negatif), tidak memenuhi syarat apabila > 0 dalam 100 ml sampel (positif).
- d. Keadaan sanitasi depot meliputi lokasi, keadaan ruangan, keadaan bangunan serta akses terhadap fasilitas sanitasi.
- e. Aspek higiene operator meliputi kesehatan operator, kinerja/perilaku operator, surat keterangan kursus higiene sanitasi bagi operator dan pelaksanaan pemeriksaan kesehatan.

- f. Penilaian alat dan proses produksi meliputi keadaan peralatan, kelayakan peralatan dan proses produksi.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain Autoclave, inkubator, tabung reaksi, beaker glass, rak tabung, botol sampel, galon, lampu bunsen, pipet, kawat ose, tabung durham, spidol, kapas, penangas air, neraca analitik, penjepit, petridish steril, spatula, erlenmeyer, mikropipet, kaca obyek, gigaskrin, pH meter, alat titrasi, mikroskop dan lemari es.

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air minum isi ulang dari lima belas depot air minum isi ulang (AMIU) yang berada di Kecamatan Sumbersari Kabupaten Jember, aquades, Laktosa Broth (LB), Brilliant Green Laktosa Broth (BGLB) 2%, Alkohol 99%.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Proses Pengambilan Data Higiene Sanitasi Depot Air Minum

Pengambilan data didapatkan dari observasi secara langsung ke depot air minum untuk melakukan pengamatan keadaan pelaksanaan higiene sanitasi yang meliputi pengamatan kondisi sanitasi depot, kondisi higiene operator, kondisi alat dan proses produksi disesuaikan dengan rubrik yang dibuat berdasarkan Pedoman Penilaian Pelaksanaan Penyelenggaraan Higiene Sanitasi Depot Air Minum, Ditjen P2PL Depkes RI Tahun 2006 (Lampiran A) dan sebagai data pendukung, dilakukan pula dengan mengadakan wawancara menggunakan lembar wawancara (Lampiran B) kepada pengelola depot air minum mengenai pengetahuan higiene sanitasi serta dokumen-dokumen perijinan

3.7.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat yang akan dipakai dalam penelitian ini seperti tabung Durham, pinset, petridish, tabung reaksi, beaker glass, pipet, kawat ose, spatula dan erlenmeyer disterilisasi dengan autoklaf pada temperatur 121°C selama 20 menit. Jarum inokulasi, kaca objek dan gigaskrin disterilkan dengan alkohol 70%.

3.7.3 Pembuatan Medium

- a. Penyiapan media *Laktosa Broth* (LB).
- b. Penyiapan media *Brilliant Green laktose Broth* (BGLB).
- c. Penyiapan media *Nutrient Agar* (NA)

3.7.4 Pengambilan Sampel

- a. Menyiapkan segala sesuatu untuk pengambilan sampel, peralatan, botol sampel dan termos es tempat sampel;
- b. Botol sampel disterilkan menggunakan air panas
- c. Mengisi botol sampel dengan air minum isi ulang langsung dari kran pengisian
- d. Sampel segera dibawa secepatnya ke laboratorium untuk diperiksa jumlah bakteri *Escherichia coli*.

3.7.5 Pengujian sampel di laboratorium

Pemeriksaan *Most Probable Number* (MPN) dilakukan terhadap sampel dengan menggunakan metode tabung ganda yang terdiri dari (5 x 10 ml) : (1 x 1 ml) : (1 x 0,1 ml). Pemeriksaan tabung ganda terdiri dari; Uji Penduga (*Presumptive Test*) dan Uji Penegasan (*Convirmative Test*).

3.7.6 Uji Penduga (*Presumptive Test*)

Media yang digunakan adalah *Laktosa Broth* (LB)

Cara pemeriksaan :

- a. Menyiapkan tabung reaksi yang masing-masing berisi 10 ml *Laktosa Broth (LB)*, kemudian disusun di rak tabung dan diberi tanda nomor urut serta jumlah atau volume bahan yang akan diperiksa;
- b. Dengan menggunakan pipet steril masukkan 10 ml sampel yang telah disiapkan kedalam tabung nomor 1 sampai 5. Tabung ke 6 diisi sampel yang sama sebanyak 1 ml, dan tabung ke 7 diisi sebanyak 0,1 ml sampel yang sama. Sehingga untuk satu depot air minum isi ulang terdapat tujuh tabung yang berisi sampel yang diambil sebelum dimasukkan kedalam galon dan tujuh tabung yang berisi sampel yang diambil setelah dimasukkan kedalam galon
 - 1) Tabung 1 s/d 5 masing – masing sebanyak 10 ml
 - 2) Tabung 6 sebanyak 1 ml
 - 3) Tabung 7 sebanyak 0,1 ml.
- d. Masing – masing tabung yang telah terisi sampel dihomogenisasi atau dikocok sampai sampel dan larutan yang digunakan untuk memeriksa tercampur rata;
- e. Setelah tercampur rata, masukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam;
- f. Setelah 24 jam, semua tabung dikeluarkan, catat semua tabung yang menunjukkan peragian lactosa (Pembentukan gas). Apabila terjadi pembentukan gas pada tabung durham maka dinyatakan positif (+) dan dilanjutkan dengan uji penegasan. Apabila dalam waktu 24 jam tidak terjadi pembentukan gas, maka dimasukkan kembali kedalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam, bila terbentuk gas pada tabung durham hasil menunjukkan positif dan dilanjutkan pula pada uji penegasan. Namun bila tetap tidak terjadi pembentukan gas pada tabung durham maka hasilnya adalah

negatif (-) yang artinya bakteri Coliform tidak terdapat dalam sampel tersebut dan tidak perlu dilakukan test penegasan.

3.7.7 Uji Penegasan (*Convirmative test*)

Media yang digunakan adalah *Brilliant Green Lactose Broth (BGLB)*, dimana uji ini bertujuan untuk menegaskan hasil positif dari uji penduga.

- a. Dari setiap tabung hasil uji penduga yang positif (+) diinokulasikan sebanyak 1-2 ose ke dalam dua tabung konfirmasi masing masing berisi 10 ml *Brilliant Green Lactose Broth (BGLB)*;
- b. Tabung tersebut kemudian diinkubasikan pada suhu 42°C selama 24-48 jam guna memastikan adanya perumbuhan bakteri *Fecal coli* atau *Escherichia coli*;
- c. Pembacaan dilakukan setelah 24-48 jam dengan melihat jumlah tabung BGLB yang menunjukkan positif dengan adanya gas.
- d. Banyaknya kandungan bakteri *E. coli* dapat dilihat dengan menghitung tabung yang positif pada media *Brilliant Green Lactose Bile Broth (BGLB)* dan dibandingkan dengan tabel MPN.

3.7.8 Pembacaan Hasil (Penghitungan Bakteri *E. coli*)

Pembacaan hasil dari uji penegasan dilakukan dengan menghitung jumlah tabung yang menunjukkan adanya gas dan tidak yang diinkubasi pada suhu 42°C. Angka yang diperoleh dicocokkan dengan tabel MPN *Escherichia coli*.

Hasil analisa metode MPN didapatkan dari mencocokkan dengan tabel MPN, yaitu tabel yang memberikan *The Most Probable Number* atau Jumlah Perkiraan Terdekat, yang tergantung dari kombinasi tabung positif (yang mengandung bakteri *Coli*) dan negatif (yang tidak mengandung bakteri *Coli*) dari kedua tahap tes. Angka MPN tersebut mempunyai arti statistik dengan derajat kepercayaan (*level of significancy*) 95 %.

- a. Apabila hasil tabung yang positif terdapat pada kombinasi tabung yang positif pada tabel MPN, maka jumlah bakteri *E.coli* dihitung menggunakan tabel MPN.
- b. Apabila hasil tabung yang positif tidak terdapat pada kombinasi tabung yang positif pada tabel MPN maka jumlah bakteri *E.coli* dihitung dengan rumus :

$$\text{Jumlah Bakteri (JPT/100 ml)} = \frac{A \times 100}{\sqrt{B \times C}}$$

Keterangan :

A. = Jumlah tabung yang positif

B. = Volume (ml) sampel dalam tabung yang negatif

C. = Volume (ml) sampel dalam semua tabung

Tabel 3.1 *Most Probable Number* (MPN) bakteri golongan *Coliform*

5 tabung 10 ml	Jumlah tabung yang positif		MPN Per-100 ml
	1 tabung 1 ml	1 tabung 0,1 ml	
0	0	0	<2
0	1	0	2
1	0	0	2,2
1	1	0	4,4
2	0	0	5
2	1	0	7,6
3	0	0	8,8
3	1	0	12
4	0	0	15
4	0	1	20
4	1	0	21
5	0	0	38
5	0	1	96
5	1	0	240
5	1	1	>240

3.7.9 Karakterisasi Bakteri *Escherichia coli*

Agar dapat membedakan antara bakteri *Escherichia coli* dengan yang lain maka perlu dilakukan karakterisasi morfologi dan biokimia.

Karakterisasi morfologi dilakukan dengan pewarnaan Gram dari setiap koloni terduga. Pewarnaan Gram bertujuan untuk melihat bentuk atau morfologi dan sifat pewarnaan dari mikroorganisme tersebut. Adapun prosedur kerja pewarnaan Gram adalah sebagai berikut:

- 1) Disiapkan kaca objek yang bersih, bebas dari kotoran terutama minyak.
- 2) Secara aseptik, diambil kultur bakteri dan dioleskan pada kaca objek dengan menggunakan ose bulat dan diberi setetes air steril untuk membantu menyebarkan bakteri secara merata pada kaca objek.
- 3) Olesan bakteri dibiarkan mengering kemudian difiksasi di atas lampu Bunsen sampai olesan bakteri benar-benar kering.
- 4) Selanjutnya Kristal ungu diambil dengan pipet tetes dan diteteskan di atas olesan bakteri sampai semua olesan terendam, lalu dibiarkan selama satu menit.
- 5) Kemudian olesan dicuci dengan air mengalir sampai Kristal larutan ungu tidak tercuci lagi.
- 6) Di atas olesan bakteri ditambahkan larutan iodin dan dibiarkan terendam selama satu menit dan dicuci dengan air mengalir.
- 7) Setelah itu tetesi usapan bakteri dengan etanol 95% selama 30 detik hingga seluruh warna birunya hilang. Kemudian usapan bakterinya dicuci kembali dengan air mengalir. Bubuhkan larutan safranin selama satu menit dan cuci kembali dengan air mengalir setelah dikering anginkan.
- 8) Preparat diamati di bawah mikroskop dengan menggunakan lensa okuler 10× dan lensa objektif 100×. Jika penempakan sel bakteri berwarna ungu maka bakteri bersifat Gram-positif, tetapi jika berwarna merah maka bakteri bersifat Gram-negatif.

Karakterisasi Biokimia dilakukan dengan menginokulasi biakan ke dalam media: indol, MR (methyl red), sitrat, glukosa Berikut adalah cara kerja dari uji biokimia:

1) Uji Produksi Indol

Uji ini akan membedakan bakteri yang mampu atau tidak mampu memproduksi indol dari tryptophan. Inokulasikan kultur sampel ke tryptophan broth lalu inkubasi pada 35 °C selama 24 jam. Tambahkan 0,2 – 0,3 ml reagen Kovac's. Jika terbentuk cincin merah pada bagian atas tabung maka bakteri dapat memproduksi indol (indol positif) dan bila terbentuk cincin kuning maka disimpulkan sebagai indol negatif. Jika kultur dugaan *Escherichia coli* maka seharusnya menunjukkan hasil positif.

2) Uji *Methyl Red*

Uji ini akan membedakan bakteri yang mampu memproduksi asam dari glukosa dan *Methyl Red* sebagai indikator penurunan pH. Inokulasikan kultur sampel pada media MR dan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 35°C-37°C. Pertumbuhan bakteri pada biakan MR selanjutnya ditetesi dengan 2-3 tetes reagen *Methyl Red*. Terbentuknya warna merah menandakan hasil uji positif, sedangkan berwarna kuning menunjukkan hasil negatif dari warna dasar media yaitu putih bening. Jika kultur dugaan *Escherichia coli* maka seharusnya menunjukkan hasil positif.

3) Uji Sitrat

Tujuan dari uji ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri yang mengutilisasi sitrat. Bakteri yang memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon akan menghasilkan natrium karbonat yang bersifat alkali, sehingga dengan adanya indikator brom thymol blue menyebabkan warna biru pada media. Cara kerja : Koloni bakteri pada medium diambil dengan ose dan diinkubasi pada media simon citrat, selanjutnya diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam. Terjadi warna biru pada media berarti tes positif, jika tidak ada pertumbuhan (negatif) maka media akan tetap berwarna hijau. Jika kultur dugaan *Escherichia coli* maka seharusnya menunjukkan hasil negatif.

4) Uji Glukosa

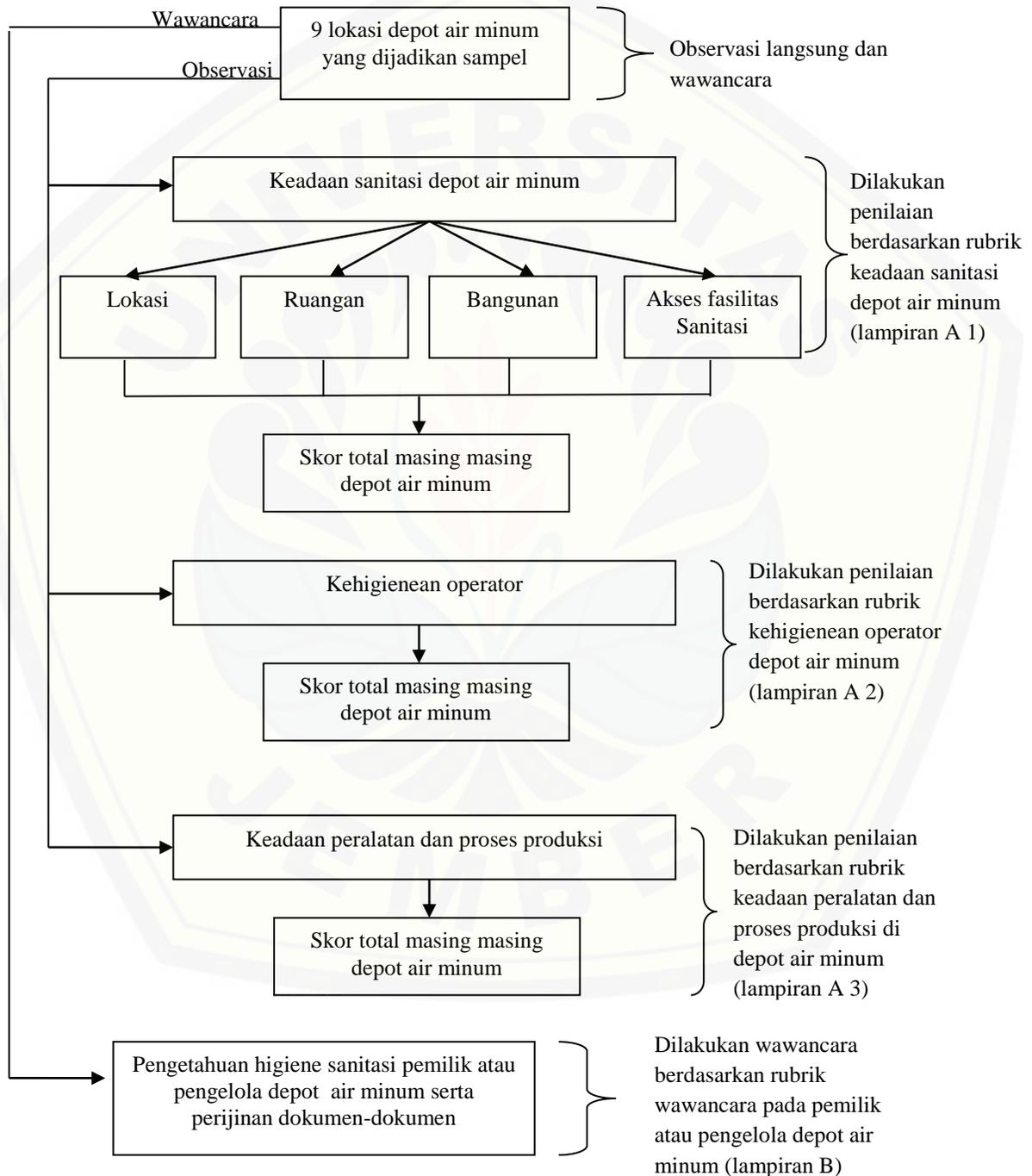
Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang mampu memfermentasikan karbohidrat. Pada uji ini terjadi perubahan warna pada media glukosa yang berubah menjadi warna kuning, artinya bakteri ini membentuk asam dari fermentasi glukosa. Pada media glukosa juga terbentuk gelembung pada tabung Durham yang diletakkan terbalik di dalam tabung media, artinya hasil fermentasi berbentuk gas.

3.8 Analisis Data

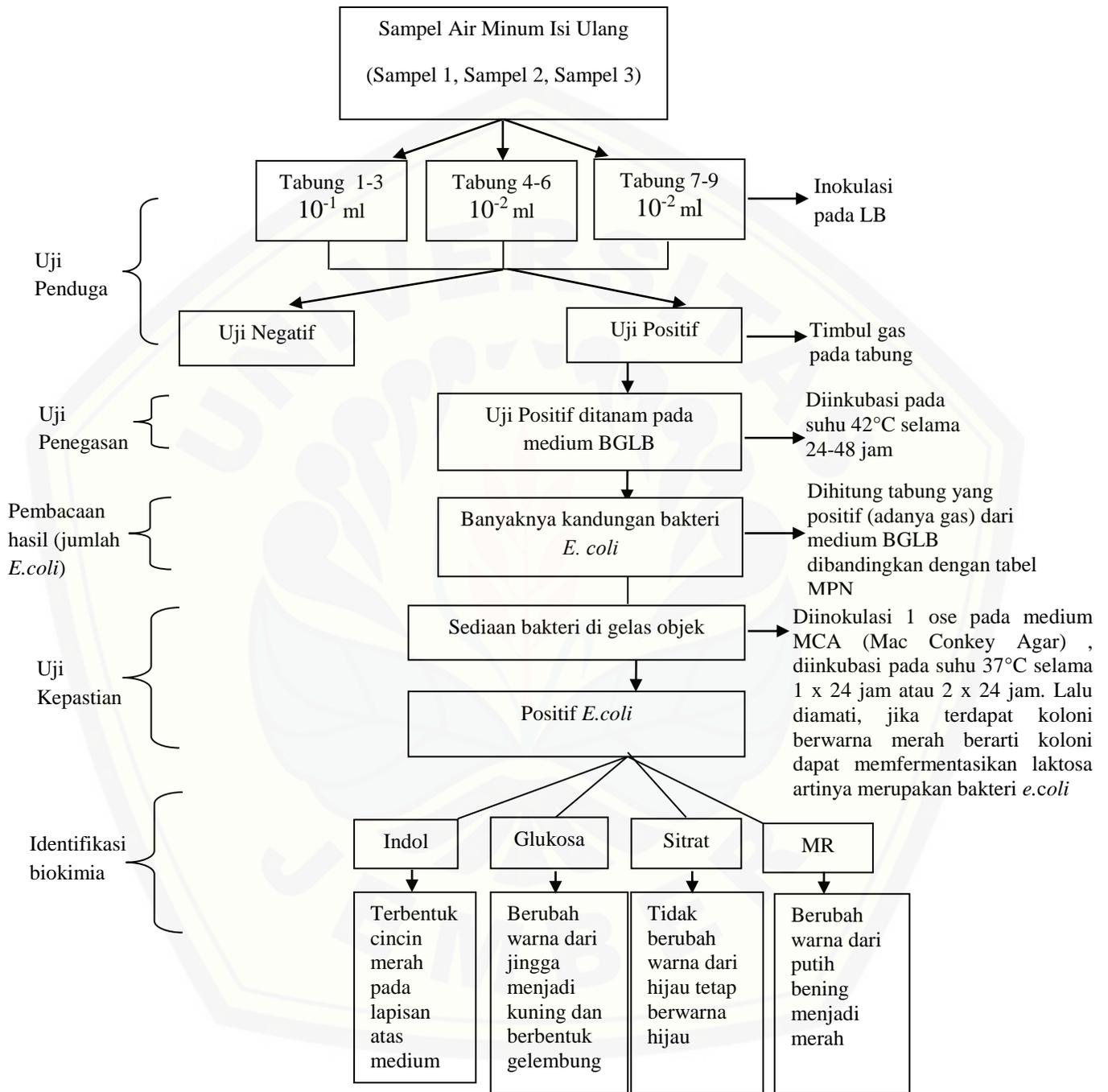
Pengolahan data disajikan dalam bentuk tabel distribusi frekuensi. Hasil observasi yang diperoleh kemudian di analisa dan dibandingkan dengan Pedoman Pelaksanaan Penyelenggaraan Higiene Sanitasi Depot Air Minum Ditjen P2PL DepKes Tahun 2006 tentang Persyaratan Teknis Depot Air Minum dan Perdagangannya, apakah air minum isi ulang tersebut memenuhi syarat atau tidak. Sedangkan hasil pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan Permenkes RI No. 492/Menkes/PER/IV/2010, tentang Persyaratan Kualitas Air Minum, apakah hasil pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* masih memenuhi persyaratan atau tidak. Kemudian dari hasil tersebut, dianalisis menggunakan analisis korelasi untuk memperoleh hubungan antara keadaan sanitasi depot air minum dengan jumlah bakteri *Escherichia coli*, hubungan antara kehigienean operator depot air minum dengan jumlah bakteri *Escherichia coli* dan hubungan antara peralatan dan proses produksi di depot air minum isi ulang dengan jumlah bakteri *Escherichia coli*.

3.9 Alur Penelitian

3.9.1 Penilaian higiene sanitasi (sanitasi depot air minum, higiene operator, alat dan proses produksi)



3.9.2 Pengujian Bakteri



3.9.3 Hubungan Higiene Sanitasi dengan Jumlah Bakteri *Escherichia coli*

