

## **Analisis Mutu Mikrobiologi *Coliform* Dan *Escherichia Coli* Pada Sampel Air Baku Dalam Kemasan Galon Di PT. XYZ**

Sindi Nurmaya Aristi<sup>1</sup>, [Siti Nurhalimah](mailto:Siti.Nurhalimah@unida.ac.id)<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Ilmu Pangan Halal, Universitas Djuanda,  
[b.2110539@unida.ac.id](mailto:b.2110539@unida.ac.id)

<sup>2</sup>Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Ilmu Pangan Halal, Universitas Djuanda,  
[siti.nurhalimah@unida.ac.id](mailto:siti.nurhalimah@unida.ac.id)

---

---

### **ABSTRAK**

Air minum dalam kemasan (AMDK) harus memenuhi standar keamanan mikrobiologi untuk menjamin kesehatan konsumen. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis mutu mikrobiologi air baku dalam kemasan galon di PT XYZ Sentul, khususnya terhadap keberadaan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* (E. coli). Pengujian dilakukan menggunakan metode filtrasi membran dengan porositas 0,45 µm, kemudian diinkubasi pada media selektif *Chromocult Coliform Agar* pada suhu 36±2°C selama 22±2 jam. Sampel diambil dari mobil tanki dan storage tank secara berkala. Hasil pengujian menunjukkan bahwa dari empat sampel yang diuji, seluruhnya negatif terhadap E. coli dan hanya satu sampel menunjukkan keberadaan *Coliform* dengan jumlah <10 koloni/250 mL, masih dalam batas aman menurut Permenkes No. 32/MENKES/PER/2017. Selanjutnya dilakukan uji konfirmasi melalui metode gores (*streak plate*) dan uji oksidase, dengan hasil keseluruhan menunjukkan negatif. Kesimpulannya, air baku di PT XYZ memenuhi persyaratan mikrobiologi dan aman untuk diproses menjadi AMDK.

**Kata Kunci:** *Coliform*, *Escherichia coli*, Mikrobiologi Air, AMDK

### **PENDAHULUAN**

Air minum dalam kemasan (AMDK) merupakan produk konsumsi yang sangat bergantung pada kualitas bahan bakunya, terutama dari sisi mikrobiologi. Keberadaan mikroorganisme patogen seperti *Coliform* dan *Escherichia coli* (E. coli) dalam air dapat menjadi indikator adanya kontaminasi tinja yang berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan serius, seperti diare, kram perut, dan infeksi saluran cerna (Khairil et al., 2019). Oleh karena itu, regulasi seperti Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2017 menetapkan bahwa air yang digunakan sebagai bahan baku AMDK harus bebas dari *E. coli* dan memiliki jumlah *Coliform* di bawah ambang batas tertentu untuk menjamin keamanan konsumen.

PT XYZ merupakan perusahaan yang bergerak di bidang produksi AMDK dan menggunakan sumber air pegunungan sebagai bahan bakunya. Air tersebut dikirim menggunakan mobil tanki ke fasilitas pengolahan dan disimpan dalam storage tank sebelum diproses. Sebagai bagian dari sistem jaminan mutu, PT XYZ melakukan pengawasan ketat melalui pengujian rutin terhadap parameter mikrobiologi menggunakan metode filtrasi membran dan media selektif *Chromocult Coliform Agar*. Uji ini dilakukan terhadap sampel air baku dari berbagai titik, baik dari mobil tanki maupun storage tank, untuk memastikan tidak terdapat cemaran mikrobiologis selama proses distribusi dan penyimpanan.

Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi mutu mikrobiologi air baku di PT XYZ, khususnya terhadap parameter *Coliform* dan *Escherichia coli*. Analisis ini tidak hanya memberikan gambaran mengenai sejauh mana kualitas air memenuhi standar yang berlaku, tetapi juga menjadi sarana implementasi langsung dari kompetensi mahasiswa dalam bidang Teknologi Pangan. Kesesuaian antara sistem pengawasan mutu mikrobiologi di PT XYZ dengan ilmu yang dipelajari di Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Ilmu Pangan Halal, menjadi dasar pemilihan tempat praktik lapang dengan judul "Analisis Mutu Mikrobiologi *Coliform* dan *Escherichia coli* pada Sampel Air Baku dalam Kemasan Galon di PT XYZ."

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 19 Agustus - 19 September 2024 bertempat di PT XYZ Bogor dengan metode pelaksanaan berupa observasi langsung, kerja nyata, dan analisis laboratorium. Kegiatan pelaksanaan kemudian dilanjutkan dengan pencatatan, analisis data, diskusi, serta telaah pustaka.

## **TINJAUAN PUSTAKA**

### **A. Sumber dan Pengambilan Air Baku**

Air baku merupakan komponen utama dalam produksi air minum dalam kemasan (AMDK), sehingga kualitasnya sangat menentukan mutu dan keamanan produk akhir. PT XYZ menggunakan sumber air dari mata air Lido yang dialirkan

menggunakan mobil tanki berkapasitas 40.000 liter ke fasilitas produksi. Air ini digunakan dalam dua kebutuhan utama, yaitu pengolahan air untuk produksi air minum serta sebagai softwater untuk pencucian galon. Untuk menjaga kualitas dan kebersihan air, setiap rumah sumber dilengkapi dengan sistem finger access. Sistem ini memastikan bahwa hanya personel berizin yang dapat mengakses area tersebut, sehingga risiko kontaminasi dapat diminimalkan.

## **B. Fasilitas Laboratorium Mikrobiologi**

Laboratorium mikrobiologi di PT XYZ dibagi menjadi empat ruangan, yaitu ruang preparasi, ruang inokulasi, ruang inkubasi, dan ruang baca. Ruang preparasi berfungsi untuk mensterilkan alat dan mempersiapkan media reagen, ruang inokulasi digunakan untuk menganalisis sampel, ruang inkubasi digunakan sebagai tempat penyimpanan kultur mikroba, dan ruang baca sebagai lokasi untuk menganalisis hasil pertumbuhan mikroba. Seluruh ruangan ini dijaga dalam kondisi aseptik, dan peralatan yang digunakan selalu dibersihkan dan disterilkan agar proses pengujian berjalan tanpa kontaminasi.

## **C. Pengambilan Sampel Air Baku**

Sampel air baku diambil dari dua titik distribusi utama, yaitu dari mobil tanki dan storage tank. Pengambilan dari mobil tanki dilakukan sebanyak dua kali setiap minggu tanpa jadwal tetap, sedangkan pengambilan dari storage tank dilakukan secara rutin setiap pagi. Masing-masing sampel diambil sebanyak 500 mL menggunakan botol Schott steril, dengan prosedur aseptik untuk menjamin integritas dan keabsahan hasil uji mikrobiologi.

## **D. Metode Pengujian Mikrobiologi**

Pengujian dilakukan menggunakan metode filtrasi membran, yaitu menyaring air melalui membran dengan porositas 0,45  $\mu\text{m}$ . Membran yang telah digunakan untuk penyaringan kemudian diletakkan pada media selektif *Chromocult Coliform Agar* dan diinkubasi pada suhu  $36 \pm 2^\circ\text{C}$  selama  $22 \pm 2$  jam. Setelah inkubasi, koloni yang tumbuh diamati. Koloni berwarna merah muda hingga merah menunjukkan keberadaan

bakteri *Coliform*, sedangkan koloni berwarna biru hingga ungu menandakan keberadaan *Escherichia coli*. Identifikasi visual ini menjadi langkah awal dalam menilai ada tidaknya kontaminasi mikrobiologis pada air baku.

### **E. Uji Konfirmasi**

Jika koloni terindikasi positif berdasarkan warna, maka dilakukan uji konfirmasi lanjutan. Koloni diinokulasi ulang dengan metode gores (*streak plate*) ke media yang baru untuk mendapatkan koloni tunggal. Selanjutnya, dilakukan uji oksidase menggunakan strip khusus. Jika strip menunjukkan perubahan warna menjadi biru atau ungu, maka hasil uji oksidase dianggap positif. Hasil ini menandakan bahwa koloni tersebut bukan berasal dari kelompok *Coliform*, karena bakteri *Coliform* umumnya tidak menunjukkan reaksi positif terhadap uji oksidase. Uji konfirmasi ini penting untuk memastikan hasil yang akurat sebelum menyimpulkan mutu mikrobiologi dari air baku yang diuji.

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Menurut menteri perindustrian & perdagangan (2003), air baku adalah air yang telah memenuhi persyaratan kualitas air bersih sebagaimana diatur dalam Permenkes No.32/MENKES/PER/2017 untuk diolah menjadi produk AMDK. Air yang tidak memenuhi persyaratan tidak dapat digunakan secara langsung untuk diolah menjadi air minum karena dapat berdampak buruk bagi kesehatan manusia jika air tersebut masuk ke dalam tubuh. Berdasarkan Peraturan Pemerintah Nomor 82 Tahun 2001 Tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air, Air yang dapat diolah menjadi air yang layak diminum adalah dengan mengolah secara sederhana dengan cara difiltrasi, disinfeksi, dan dididihkan. Sumber air baku untuk air bersih secara garis besar dapat digolongkan menjadi empat bagian yaitu air laut, air atmosfer atau air hujan, air permukaan dan air tanah masing-masing mempunyai karakteristik yang berbeda-beda ditinjau dari segi kualitas dan kuantitasnya.

Terdapat perbedaan penetapan parameter antara produk air minum dalam kemasan dan parameter air baku yang digunakan. Untuk air minum dalam kemasan diatur dalam SNI 3553:2015, sedangkan untuk air baku mengacu pada PERMENKES no 32 Tahun 2017 tentang Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan Dan Persyaratan Kesehatan Air Untuk Keperluan Higiene Sanitasi, Kolam Renang, Solus Per AQUA dan Pemandian umum. Dikutip dari PERMENKES No 32 Tahun 2017 yang mengatur Air untuk keperluan sanitasi dikatakan bahwa “Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi biasanya digunakan untuk pemeliharaan kebersihan perorangan seperti mandi dan sikat gigi, serta untuk keperluan cuci bahan pangan, peralatan makan, dan pakaian. Selain itu Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi dapat digunakan sebagai air baku air minum.”

Permenkes No.32/MENKES/PER/2017 secara rinci mengatur persyaratan kualitas air yang digunakan sebagai bahan baku produksi air minum. Peraturan ini mencakup berbagai parameter fisik, kimia, dan mikrobiologi yang harus dipenuhi oleh air baku. Berikut adalah Parameter mikrobiologi dalam Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan untuk Media Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi enurut peraturan pemerintah no 32 tahun 2017.

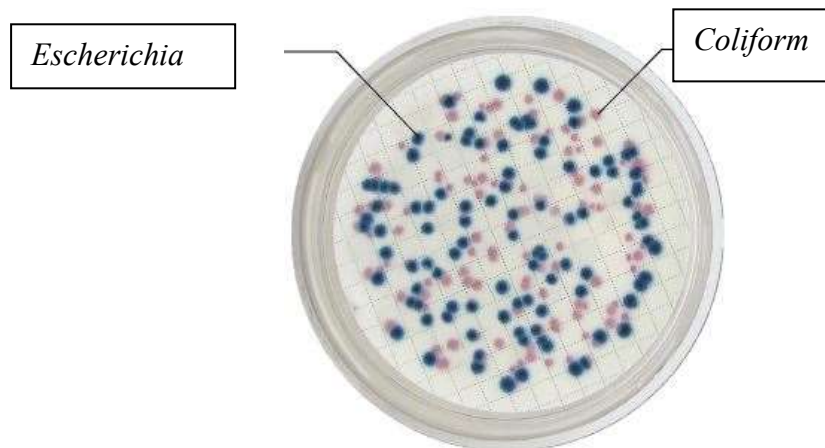
Tabel 1. Parameter Mikrobiologi PERMENKES No 32 Tahun 2017

No	Parameter Wajib	Unit	Standar Baku Mutu (kadar maksimum)
1.	Total <i>Coliform</i>	CFU/100mL	50
2.	E. coli	CFU/100mL	0

Bakteri *Coliform* merupakan golongan bakteri hasil Gram-negatif yang tidak membentuk spora, bersifat fakultatif anaerobik, oksidase negatif, dan dapat mendegradasi laktosa menjadi asam dan gas dalam waktu 22+2 jam pada suhu 360°C (Ria,2021). Kelompok bakteri Coliform merupakan bakteri oportunistik yang berpotensi menyebabkan penyakit. Genus yang tergolong dalam kelompok

ini meliputi *Citrobacter*, *Enterobacter*, dan *Escherichia coli*. Keberadaan bakteri tersebut sering kali mengindikasikan buruknya kondisi sanitasi serta potensi kontaminasi oleh mikroorganisme patogen yang membahayakan (Halkman & Halkman, 2014; Talaro et al., 2013). Untuk mendeteksi bakteri *Coliform* dalam air bersih, dapat digunakan sejumlah metode analisis yang telah distandardisasi, salah satunya adalah metode membran filter.

Analisis keberadaan bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli* dilakukan menggunakan metode saringan membran dengan media steril *Chromocult Coliform Agar* (CCA). Berdasarkan informasi dari Merck Millipore (2014), indikasi hasil positif pada media tersebut ditandai dengan munculnya koloni berwarna merah muda hingga merah untuk bakteri *Coliform*, sedangkan koloni *Escherichia coli* ditunjukkan oleh warna biru hingga ungu. Hasil pengamatan menunjukkan koloni berwarna merah untuk *Coliform* dan biru untuk *Escherichia coli* pada saringan membran. Laporan ini tidak diizinkan oleh perusahaan untuk mempublikasi hasil foto tersebut sehingga digunakan gambar dari literatur.



Gambar 1. Hasil Positif Pada Pengujian Total *Coliform* (Pvl.Pt)

Media CCA (*Chromocult Coliform Agar*) digunakan untuk mengamati bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*. Media CCA (*Chromocult Coliform Agar*) adalah media yang selektif untuk uji analisa *Coliform*. Media CCA (*Chromocult Coliform Agar*)

mengandung *chromogenic mixture* (*Salmon-GAL* dan  $X\text{-}\beta\text{-D-glucoronide}$ ) yang berfungsi untuk mendeteksi total dari bakteri *Coliform* dan *Escherichia coli*.

*Coliform* mempunyai enzim  $\beta\text{-D-galaktosidase}$  yang berfungsi untuk mendegradasi substrat *Salmon-GAL* menghasilkan (*6-chloro-3-indoxyl- $\beta\text{-D-galactopyranoside}$* ) senyawa kromogenik, sehingga koloni yang tumbuh berwarna merah. *E. coli* mempunyai enzim  $\beta\text{-D-glukoronidase}$  dan  $\beta\text{-D-galaktosidase}$  yang berfungsi untuk mendegradasi substrat *X-glucuronide* (*5-bromo-4-chloro-3-indoxyl- $\beta\text{-D-glucuronide}$* ) dan *Salmon-GAL* menghasilkan senyawa kromogenik sehingga koloni yang tumbuh pada media CCA (*Chromocult Coliform Agar*) berwarna biru tua. Jika koloni tumbuh pada media tersebut, maka perlu dilakukan uji konfirmasi menggunakan metode oksidasi. Data hasil pengujian total *Coliform* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengujian Air Baku.

Minggu ke-	Tanggal	Kode sampel	Suspect <i>Coliform</i> (Koloni/250mL)	Suspect <i>E coli</i> (Koloni/250mL)
1	02 / 09 /2024	S16	0	0
	04 / 09 /2024	S07	<10	0
2	09 / 09 /2024	S09	0	0
	13 / 09 /2024	S04	0	0
Persyaratan PERKEMENKES (Batas maksimum)			50	0

Hasil pengujian mikrobiologi terhadap air baku dalam mobil tank berkapasitas 40.000 Liter di PT XYZ yang dilakukan selama dua minggu pada bulan September 2024 menunjukkan bahwa kualitas air baku memenuhi persyaratan yang ditetapkan dalam Permenkes Nomor. 32/MENKES/PER/2017. Berdasarkan Tabel 2, pengujian dilakukan terhadap empat sampel dengan kode S16, S07, S09, dan S04. Parameter mikrobiologi yang diuji adalah jumlah *Coliform*

dan *Escherichia coli*/250 mL sampel. Hasilnya, seluruh sampel menunjukkan nilai 0 koloni/250 mL untuk *Coliform* kecuali untuk sampel S07 yang menunjukkan hasil <10 koloni/250 mL dan 0 koloni/250 mL untuk *Escherichia coli*. Nilai ini jauh di bawah batas maksimum yang diperbolehkan oleh Permenkes, yaitu 50 koloni/100 mL untuk bakteri *Coliform* dan 0 koloni untuk bakteri *E coli*.

Metode yang digunakan dalam pengujian ini adalah filtrasi membran dengan porositas 0,45 µm, yang dirancang untuk menyaring mikroorganisme dengan ukuran tertentu, termasuk *Coliform* dan *Escherichia coli*. Sampel yang telah disaring diinkubasi pada media selektif di laboratorium mikrobiologi dengan kondisi suhu yang dikontrol pada 36 ±2°C selama 22 ±2 jam. Koloni mikroba yang muncul kemudian diamati untuk menentukan keberadaan *Coliform* dan *Escherichia coli*. berdasarkan karakteristik pertumbuhan spesifik dalam pengujian ini, hasil menunjukkan bahwa koloni mikroba yang diamati berada jauh di bawah ambang batas yang diperbolehkan.

Tabel 3. Data Hasil Uji penegasan/uji konfirmasi

Minggu ke-	Tanggal	Kode sampel	Hasil <i>Coliform</i>	Hasil <i>E. coli</i>
1	02/09/2024	S16	Negatif	Negatif
	04/09/ 2024	S07	Negatif	Negatif
2	09/09/2024	S09	Negatif	Negatif
	13/09/2024	S04	Negatif	Negatif

Uji konfirmasi dilakukan melalui teknik gores atau *streak plate*, yaitu metode penanaman mikroorganisme pada media agar padat. Teknik ini juga berfungsi untuk menyeleksi koloni bakteri guna memperoleh kultur murni. Kultur murni sendiri merupakan hasil pertumbuhan mikroorganisme yang bebas dari kontaminasi, hanya terdiri dari satu jenis spesies, dan memiliki karakteristik yang seragam (Mastuti, 2017). Secara prinsip, metode ini bertujuan untuk

memisahkan antar koloni mikroorganisme dengan menggunakan alat bantu berupa jarum ose Pada analisa ini Koloni tunggal atau kultur murni di streak pada media CCA (*Chromocult Coliform Agar*) secara aseptik. inkubasi Kembali selama  $22\pm 2$  jam dengan suhu  $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ . kemudian lihat subur atau tidaknya koloni. Dapat dilihat pada tabel kode sampel S07 di streak sesuai suspek yang ada. Hasil Menunjukkan negatif maka tidak dilanjut uji oksidase karena negatif *Coliform* dan *Escherichia coli*. Jika subur dilajut dengan oksidase (SNI, 2015).

- **Oksidase**

Uji osidase berfungsi untuk menentukan ada tidaknya enzim oksidase. Prin sip kerjanya biakan bakteri pada kultur tunggal subur setelah streak dioleskan pada kertas strip oksidase dengan menggunakan jarum ose (Nasution,2020). Pengamatan dilakukan apabila warna kertas yang digoreskan bakteri berubah warna menjadi ungu, hasil (+) positif hal ini berartibakteri yang ada mempunyai enzim oksidase sebaliknya jika tidak terjadi perubahan warna berarti bakteri yang ada tidak menghasilkan enzim oksidase atau hasil (-) negatif (Agrippina, 2019). Berdasarkan hasil analisis uji penegasan semua sampel tidak dilakukan oksidase. Maka dari itu sampel Air baku di PT XYZ telah memenuhi standar mutu baik Perusahaan maupun Permenkes No. 32/MENKES/PER/2017.

Proses pengendalian mutu air baku yang diterapkan PT XYZ mencakup pengelolaan sumber air di Lido dengan perlindungan ketat melalui penggunaan rumah sumber untuk melindungi air dari potensi kontaminasi lingkungan. Selain itu, air baku diangkut menggunakan mobil tanker yang dirancang khusus dengan kapasitas 40.000 liter untuk memastikan sterilitas selama transportasi. Setibanya di storage tank, air diuji secara rutin Setiap hari, dengan setiap sampel diambil menggunakan teknik aseptik untuk menjaga keakuratan hasil pengujian. Dari sisi regulasi, Permenkes mengatur bahwa air baku yang dapat diolah menjadi air minum harus memenuhi persyaratan fisik, kimia, dan mikrobiologi. Secara mikrobiologi, keberadaan *Coliform* dan *Escherichia coli*. menjadi indikator utama untuk menilai kebersihan dan keamanan air baku.

*Coliform* adalah kelompok bakteri yang sering ditemukan pada air yang terkontaminasi limbah, sementara *Escherichia coli*. Merupakan indikator pencemaran tinja yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan serius, seperti diare dan infeksi saluran cerna. Oleh karena itu, hasil yang menunjukkan nilai 0 koloni/100 mL menunjukkan tingkat keamanan air yang sangat baik dan sesuai dengan standar.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan terhadap air baku dari mobil tank dengan parameter pengujian total *Coliform* dan *Escherichia coli*., seluruh sampel yang diuji telah memenuhi standar perusahaan yang mengacu pada persyaratan Permenkes 32/MENKES/2017 tentang Kualitas Air Bersih untuk standar air baku yang belum diolah. Dengan begitu penerapan Proses pengendalian mutu mikrobiologi air baku yang diterapkan PT XYZ sesuai dengan standar regulasi.

## REFERENSI

- Agrippina, F. D. 2019. *Uji Coliform dan Escherichia coli Produk Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) Yang Beredar di Pasaran di Daerah Bandar Lampung*. Indonesian Journal of Industrial Research, 11(2), 54–57.
- Amanah, L., & Nurlaela, R. S. 2024. *Analisis Mutu Mikrobiologi Coliform dan Escherichia coli pada Air Minum Dalam Kemasan (AMDK) Gelas 200 mL di PT. Sumber Sukses Sentosa-Bogor*. Karimah Tauhid, 3(10), 11691–11701.
- Andrian, G. 2014. *Analisis Cemarkan Bakteri Coliform dan Identifikasi Escherichia coli pada Air Minum Isi Ulang dari Depot di Kota Manado*. Jurnal Ilmiah Farmasi, 3(3), 325–334.
- Badan Standardisasi Nasional. 2015. *SNI 3553:2015 Tentang Air Mineral*. Jakarta: BSN.

- Halkman, A. K., & Halkman, H. B. D. 2014. *Principles of Food Hygiene and Sanitation*. Ankara: Microbiological Association Press.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2017 Tentang Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan dan Persyaratan Kesehatan Air Untuk Keperluan Higiene Sanitasi, Kolam Renang, Solus Per Aqua dan Pemandian Umum*.
- Kementerian Perindustrian dan Perdagangan. 2003. *Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan Republik Indonesia Nomor 651/MPP/Kep/10/2003 Tentang Ketentuan dan Tata Cara Pemberian Izin Usaha Industri dan Tanda Daftar Industri*. Jakarta.
- Khairil, I., et al. 2019. *Uji Cemaran Bakteri Coliform pada Minuman Es Dawet yang Beredar di Kecamatan Kedaton Bandar Lampung dengan Metode Most Probable Number (MPN)*. *Jurnal Farmasi Malahayati*, 1(1).
- Merck Millipore. 2014. *Instructions for Use: Chromocult Coliform Agar*. Darmstadt, Germany: Merck KGaA.
- Nasution, M. Y., Pulungan, A. S. S., Chairani, F., & Wulandari, W. 2020. *Isolasi dan Identifikasi Biokimia Bakteri Asal Sungai Batang Gadis Sumatera Utara*. *Jurnal Biosains*, 6(3), 109–114.
- Rani, V., & Putra, R. R. 2016. *Analisis Escherichia coli pada Air Minum Dalam Kemasan yang Beredar di Kota Tasikmalaya*. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 5(2), 121–125.
- Ria, K., Rita, E., & Fifia, C. 2021. *Uji Bakteriologis Air Minum pada Mata Air Bukit Sikumbang Desa Pulau Sarak Kecamatan Kampar*. *JOM FK*, 2(2), 1–7.
- Savitri, Y., & Wijaya, I. M. M. 2016. *Pengelolaan dan Perlindungan Air Baku dalam Upaya Penyediaan Air Minum yang Berkelanjutan*. Magister Teknik Sanitasi.
- Talaro, K. P., Chess, B., et al. 2013. *Foundations in Microbiology (9th ed.)*. New York: McGraw-Hill Education.