

Isolasi Bakteri Koliform untuk Memenuhi Kebutuhan Bahan Praktikum di Laboratorium Teknologi Rekayasa Pangan

Isolation of Coliform Bacteria as Learning Materials in the Food Engineering Technology Laboratory

Wahyu Setyaji Dwiantara ^{1*}, Widya Rahmawati ¹, Wahyu Kartika Nursuci ²

¹ Jurusan Teknologi Pertanian, Politeknik Negeri Jember

² Jurusan Peternakan, Politeknik Negeri Jember

* wahyu.sd@polije.ac.id

SUBMITTED : JAN 08, 2022

ACCEPTED : FEB 13, 2022

PUBLISHED : FEB 28, 2022

ABSTRAK

Mikroba, baik yang menguntungkan maupun yang merugikan, sangat dibutuhkan di bidang pendidikan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri koliform yang dapat digunakan sebagai bahan praktikum di Laboratorium Teknologi Rekayasa Pangan. Bakteri ini bermanfaat untuk mempelajari mengenai cemaran mikroba pada produk olahan pangan. Terdapat tiga sampel yang digunakan yaitu sampel tanah, air sungai dan jamu tradisional. Seleksi awal dilakukan dengan pengujian kemampuan fermentasi laktosa pada medium kaldu laktosa dan agar *Eosin Methylene Blue*. Selanjutnya, dilakukan pengamatan mikroskopis, karakteristik biokimia dan pengurutan *DNA*. Hasil penelitian ini menunjukkan hanya sampel air sungai yang terdapat bakteri koliform yaitu isolat B1-01 dan B1-04. Berdasarkan pengurutan *DNA*, didapatkan isolat B1-01 yang memiliki kemiripan sebesar 99,86% dengan *Klebsiella pneumoniae* strain DSM 30104 dan B1-04 memiliki kemiripan 99,64% dengan *Pseudocitrobacter faecalis* strain 25 CIT. Kedua isolat tersebut dapat dijadikan contoh bakteri koliform pada praktikum di Laboratorium TRP misalnya saat mempelajari cemaran mikroba pada produk olahan pangan.

Kata kunci — koliform, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudocitrobacter faecalis*

ABSTRACT

Microbes, both beneficial and harmful, are needed in educational purpose. This study aims to obtain coliform bacteria that can be used as learning materials in the Food Engineering Technology Laboratory. These bacteria are useful to learn about microbial contamination in processed foods. There are three samples used, those are soil, river, and traditional herbal medicine. The initial selection was carried out by testing the ability to ferment lactose on lactose broth and Eosin Methylene Blue agar. Furthermore, microscopic observation, biochemical characteristic and DNA sequencing were carried out. The results of this study showed that only river sample contained coliform bacteria, namely B1-01 and B1-04. Based on DNA sequencing, it was found that isolate B1-01 had 99.86% similarity with *Klebsiella pneumoniae* strain DSM 30104 and B1-04 had 99.64% similarity with *Pseudocitrobacter faecalis* strain 25 CIT. Both isolates can be used as examples of coliform bacteria as learning materials in the Food Engineering Technology Laboratory, for example when studying microbial contamination in processed foods.

Keywords — coliform, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudocitrobacter faecalis*

 OPEN ACCESS

© 2022. Wahyu Setyaji Dwiantara, Widya Rahmawati, Wahyu Kartika Nursuci



Creative Commons
Attribution 4.0 International License

1. Pendahuluan

Mikroba adalah bentuk kehidupan terkecil tetapi sangat berperan besar dalam kehidupan organisme lain. Bahkan, oksigen yang sekarang melimpah ini merupakan hasil dari aktivitas mikroba pada zaman dulu (Madigan et al., 2015). Ada juga mikroba yang dapat berperan sebagai agen pengendali hama serangga seperti *Beauveria bassiana* (Aryantha & Dwiantara, 2019). Dalam bidang pangan, mikroba juga bisa diaplikasikan. Nursuci (2014) melakukan inovasi dalam penelitiannya dengan menambahkan *Lentinula edodes* pada sosis fermentasi ayam. Penerapan yang lain adalah pemanfaatan *Saccharomyces cerevisiae* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Kedua mikroba ini secara bersamaan mampu meningkatkan sifat organoleptik dan menghambat pembusukan pada produk roti (Edeghor et al., 2016)

Sebagian kecil mikroba memiliki sifat yang merugikan. Bakteri koliform, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aerogenes*, *Bacillus cereus* dll. termasuk dalam daftar cemaran dalam produk olahan pangan (Badan POM RI, 2019). Salah satu akibat yang ditimbulkan jika mikroba tersebut ada di dalam makanan adalah menyebabkan penyakit sehingga perlu adanya pengendalian dengan antimikroba. Penelitian dari Rahmawati (2010) berhasil mendapatkan senyawa fenolik hasil isolasi dari rimpang jahe (*Zingiber officinale*) yang dengan konsentrasi 0,2% dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus*.

Mikroba, baik itu yang menguntungkan maupun merugikan, sangat dibutuhkan di bidang pendidikan. Mikroba digunakan sebagai bahan praktikum maupun penelitian di laboratorium pendidikan. Kebutuhan kultur murni mikroba di Laboratorium Teknologi Rekayasa Pangan (TRP), saat ini, dipenuhi dengan cara isolasi dari suatu sampel seperti sayur dan daging mentah secara langsung saat praktikum. Kultur mikroba hasil isolasi saat praktikum hanya mewakili sebagian kecil kelompok mikroba. Masalah lain yang muncul adalah sulitnya mahasiswa dalam membuat hipotesis, hal ini dikarenakan kultur mikroba hasil isolasi tidak menentu. Selain dari isolasi saat praktikum, kultur murni mikroba juga didapatkan dari laboratorium lain yang telah memilikinya. Tetapi, kultur mikroba yang

tersedia belum mewakili sebagian besar mikroba yang umum dikenal seperti *S. aureus*, *P. aerogenes*, dan *B. cereus*.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri koliform yang dapat digunakan sebagai bahan praktikum di Laboratorium TRP. Hasil penelitian Puspitasari et al. (2017) menunjukkan bahwa bakteri ini sering ditemui pada perairan yang tercemar limbah kotoran (feses) manusia ataupun hewan. Secara morfologi mikroskopis, bakteri koliform memiliki karakteristik berbentuk batang dan gram negatif (Madigan et al., 2015). Uji fermentasi laktosa yang dilakukan pada bakteri ini memberikan hasil positif (Novita et al., 2020). Keberadaan kelompok bakteri koliform menjadi salah satu parameter cemaran mikroba dalam pangan olahan seperti es krim, kedelai fermentasi dan air mineral (Badan POM RI, 2019). Oleh karena itu, isolat bakteri ini dapat dijadikan sebagai bahan praktikum untuk mempelajari cemaran mikroba.

2. Metodologi

Sampel yang digunakan adalah sampel tanah, air sungai dan jamu tradisional. Air sungai diambil dari sungai yang letaknya dekat dengan peternakan sapi. Tanah yang digunakan adalah tanah yang mengandung pupuk kandang dan telah diaplikasikan ke tanaman. Kedua sampel tersebut diambil di daerah Sumpasari, Jember. Jamu tradisional yang digunakan adalah jamu kunir asam dari daerah Balung, Jember.

2.1. Uji fermentasi laktosa pada kaldu laktosa

Uji ini dilakukan berdasarkan prinsip Angka Paling Mungkin (*Most Probable Number/MPN*) dalam Madigan et al. (2015). Empat tabung reaksi yang telah diberi tabung Durham diisi dengan sembilan mL kaldu laktosa untuk masing-masing sampel (total 12 tabung untuk tiga sampel). Ke dalam tabung reaksi tersebut, masing-masing sampel dimasukkan. Sampel tanah yang digunakan sebanyak satu g sedangkan sampel air sungai dan jamu sebanyak satu mL. Dibuat seri pengenceran hingga pengenceran 10^{-4} . Diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan warna medium yang keruh dan pembentukan gas pada tabung Durham.



2.2. Isolasi koliform pada agar *Eosin Methylene Blue (EMB)*

Tiga tabung dengan hasil positif uji fermentasi laktosa pada kaldu laktosa dari tiga pengenceran terakhir dilakukan isolasi dengan metode *spread plate*. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri koliform akan tumbuh (hasil positif) dengan warna koloni merah muda, ungu gelap atau hitam dengan hijau metalik (Cappuccino & Sherman, 2020).

2.3. Pengamatan morfologi mikroskopis bakteri

Morfologi mikroskopis isolat bakteri dilakukan melalui pewarnaan gram. Hasil positif uji sebelumnya ditumbuhkan di medium *nutrient agar (NA)* miring pada tabung reaksi. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Dibuat preparat kering dari masing-masing isolat lalu ditetaskan kristal violet dan didiamkan selama satu menit. Kelebihan warna dibilas menggunakan akuades. Kemudian ditetaskan larutan iodin dan didiamkan selama satu menit. Dibilas menggunakan akuades dan dialiri dengan etanol 96%. Dibilas kembali dengan akuades. Selanjutnya ditetaskan safranin dan didiamkan selama 30 detik (Cappuccino & Sherman, 2020). Hasil positif ditandai dengan bentuk batang dan warna merah.

2.4. Karakteristik biokimia

Masing-masing isolat bakteri dalam medium *NA* miring berumur 24 jam dilakukan karakterisasi biokimia melalui uji katalase, uji fermentasi laktosa, uji *Triple Sugar-Iron agar (TSIA)*, uji metil merah dan uji voges-proskauer. Metode pengujian tersebut dilakukan berdasarkan Cappuccino & Sherman (2020).

2.5. Identifikasi bakteri secara molekuler

Isolat yang berdasarkan karakteristik biokimia merupakan bakteri koliform dikirim untuk dilakukan *sequencing* atau pengurutan DNA ke PT. Genetika Science Indonesia. Ekstraksi DNA genom menggunakan *Quick-DNA Fungal/ Bacterial Miniprep Kit* (Zymo Research, D6005). Aplikasi 16s *rRNA* menggunakan (2x) My Taq HS Red Mix (Bioline, BIO-25048).

3. Pembahasan

3.1. Uji fermentasi laktosa pada kaldu laktosa

Bakteri koliform mampu menggunakan laktosa sebagai sumber karbon (Cappuccino & Sherman, 2020). Pengujian pada tahap ini bertujuan untuk memperkirakan keberadaan bakteri koliform dari setiap sampel. Kehadiran bakteri koliform ditunjukkan dengan timbulnya gas di dalam tabung durham yang telah diletakkan di dalam tabung reaksi. Tabel 1 menunjukkan hasil uji fermentasi laktosa dari ketiga sampel dengan simbol + menandakan adanya gas di dalam tabung durham. Gas yang terbentuk pada tabung durham adalah gas CO₂ yang dihasilkan pada proses fermentasi laktosa oleh bakteri (Cappuccino & Sherman, 2020).

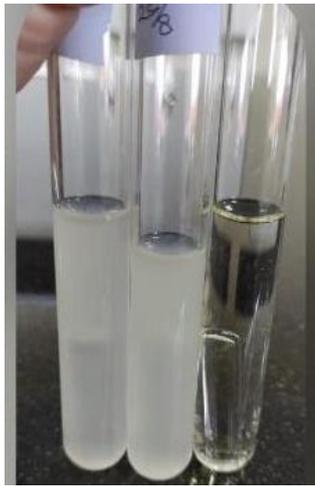
Tabel 1. Hasil uji fermentasi laktosa pada kaldu laktosa dari ketiga sampel

Pengenceran	Tanah	Air Sungai	Jamu
10 ⁻¹	*	+	+
10 ⁻²	+	+	+
10 ⁻³	+	+	+
10 ⁻⁴	+	+	-

* tidak dilakukan pengujian

Pada sampel tanah, hasil uji positif ditunjukkan di tabung pengenceran 10⁻², 10⁻³ dan 10⁻⁴. Pengenceran 10⁻¹ tidak dilakukan pengujian karena diperkirakan bakteri yang akan tumbuh sangat banyak. Pada sampel air sungai, uji positif muncul hingga tabung pengenceran 10⁻⁴. Pada sampel jamu, uji positif terdapat pada tabung pengenceran 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³. Dari hasil ini dapat dilihat bahwa sampel jamu mengandung jumlah mikroba yang lebih sedikit dibandingkan sampel tanah dan air sungai. Sampel jamu telah mengalami pengolahan yang menyebabkan jumlah mikroba yang terkandung menjadi sedikit. Pemanasan pada makanan atau minuman hingga mendidih dapat menurunkan risiko terkena diare secara signifikan (Heitzinger et al., 2020). Hasil ini hanya memperkirakan keberadaan bakteri koliform, tidak menunjukkan apakah sampel tersebut dapat dikonsumsi atau tidak.





Keterangan : Urutan gambar dari sebelah kiri adalah pengenceran 10^{-2} , 10^{-1} dan kontrol negatif. Tabung durham pada pengenceran 10^{-2} , 10^{-1} terisi penuh gas sedangkan pada kontrol negatif tidak terdapat gas.

Gambar 1. Hasil uji fermentasi laktosa pada kaldu laktosa dari sampel air sungai.

3.2. Isolasi koliform pada agar *Eosin Methylene Blue (EMB)*

Tabel 2. Hasil pengamatan warna koloni dari masing-masing isolat

Isolat	Warna koloni di agar EMB
A3-02	Ungu
A3-04	Ungu
A3-05	Ungu
A3-06	Putih
B1-01	Ungu gelap
B1-04	Ungu gelap (terbentuk warna metalik)
C2-03	Ungu

Keterangan: Isolat dengan awalan huruf A didapatkan dari sampel tanah, B dari sampel air sungai dan C dari sampel jamu

Isolasi bakteri dilakukan dengan metode *spread plate*. Tujuannya untuk mendapatkan koloni tunggal bakteri. Pengenceran yang digunakan berdasarkan hasil uji fermentasi laktosa yang sebelumnya dilakukan. Medium agar *EMB* dipilih karena mengandung metilen biru yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif sehingga bakteri gram negatif, termasuk koliform, lebih mudah didapatkan. Selain itu, medium tersebut juga

dapat membedakan bakteri yang dapat memfermentasi laktosa dengan yang tidak (Madigan et al., 2015). Hasil dari isolasi ini didapatkan empat koloni dari sampel tanah, dua koloni dari sampel air sungai dan satu koloni dari sampel jamu. Tabel 2 menunjukkan warna dari koloni tunggal yang didapatkan.

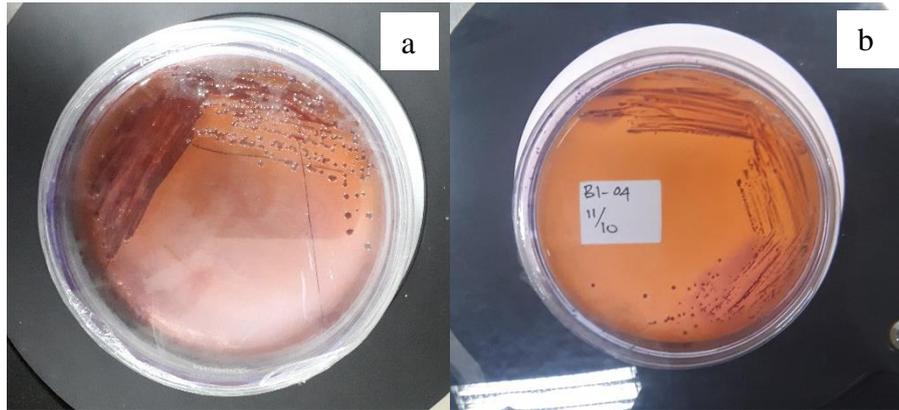
3.3. Pengamatan morfologi mikroskopis bakteri

Hasil koloni tunggal dari tahap sebelumnya dipastikan kemurniannya dengan metode *four-way streak*. Selanjutnya dilakukan pengamatan di bawah mikroskop. Bentuk morfologi mikroskopis seluruh isolat adalah batang. Hasil pewarnaan gram menunjukkan gram negatif untuk semua isolat. Hal ini membuktikan bahwa *EMB* benar-benar dapat menghambat bakteri gram positif. Kashef & Hamblin (2017) mengatakan kandungan metilen biru dalam *EMB* tidak dapat menimbulkan resistensi.

Tabel 3. Morfologi mikroskopis bakteri

Isolat	Morfologi mikroskopis	Pewarnaan gram
A3-02	Batang	Negatif
A3-04	Batang	Negatif
A3-05	Batang	Negatif
A3-06	Batang	Negatif
B1-01	Batang	Negatif
B1-04	Batang	Negatif
C2-03	Batang	Negatif

Di dalam buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, bakteri gram negatif dengan bentuk batang dikelompokkan ke dalam Golongan 4 dan Golongan 5. Beberapa genus dari golongan 4 yaitu *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Beijerinckia* dan *Acetobacter*. Sementara itu, pada golongan 5 terdapat keluarga Enterobacteriaceae dan Vibrionaceae (Reyes, 2018). Bakteri koliform termasuk ke dalam keluarga Enterobacteriaceae, keluarga bakteri yang hidup di saluran pencernaan manusia dan hewan. Temuan baru menyatakan bahwa Enterobacteriaceae mampu berperan melindungi inang dari kolonisasi *Salmonella* (Litvak et al., 2019).



Keterangan: a. Isolat B1-01
b. Isolat B1-04

Gambar 2. Hasil warna koloni pada agar *EMB* isolat B1-01 dan B1-04

3.4. Karakteristik biokimia

Tabel 4. Hasil karakteristik biokimia

Uji	Isolat							Keterangan
	A3-02	A3-04	A3-05	A3-06	B1-01	B1-04	C2-03	
NA miring	Putih							
Katalase	+	+	+	+	+	+	+	+ : terbentuk gelembung - : tidak terbentuk gelembung
Fermentasi laktosa	-	-	-	-	+	+	-	+ : terbentuk gas - : tidak terbentuk gas
<i>Triple sugar-iron agar (TSIA)</i>	+ / + / -	+ / + / -	+ / + / -	- / - / -	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / -	+ / + / - : fermentasi laktosa dan/atau sukrosa, tidak terbentuk gas + / + / + : fermentasi laktosa dan/atau sukrosa, terbentuk gas - / - / - : tidak terjadi fermentasi, tidak terbentuk gas
Metil merah	-	-	-	-	-	+	-	+ : merah - : kuning
Voges Proskauer	-	-	-	-	+	-	-	+ : merah muda - : kuning

Karakteristik biokimia bermanfaat untuk mengklasifikasikan bakteri. Dari karakteristik biokimia ini, didapatkan hanya isolat B1-01 dan B1-04 yang menunjukkan hasil positif pada uji fermentasi laktosa. Salah satu ciri-ciri bakteri koliform adalah memiliki kemampuan melakukan fermentasi laktosa. Maka dari itu, hanya kedua isolat tersebut yang menjadi target pada

penelitian ini. Contoh spesies bakteri yang mempunyai kemampuan tersebut antara lain *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* dan *Klebsiella pneumoniae* (Cappuccino & Sherman, 2020).

Tiga dari lima uji karakteristik biokimia yang dilakukan terhadap B1-01 dan B1-04 memberikan hasil yang sama yaitu uji katalase, uji fermentasi laktosa dan uji *TSIA*. Dua uji yang

lain berbeda, yaitu uji metil merah dan *Voges Proskover*. Pada uji metil merah, B1-01 negatif sedangkan B1-04 positif. Hasil uji ini membuktikan bahwa isolat B1-01 diduga kuat merupakan termasuk bakteri koliform fekal (Lewerissa & Kaihena, 2014). Kemudian B1-01 memberikan hasil positif pada uji *Voges Proskover* sementara B1-04 negatif. Berdasarkan semua hasil karakteristik biokimia yang dilakukan, B1-01 memiliki karakteristik seperti *K. pneumoniae* sedangkan B1-04 seperti *E. coli* (Cappuccino & Sherman, 2020).

3.5. Identifikasi bakteri secara molekuler

Identifikasi bakteri dapat dilakukan dengan bantuan hasil dari serangkaian uji karakteristik

biokimia. Tetapi, tidak sepenuhnya dapat diandalkan (Kämpfer et al., 2020). Identifikasi secara molekuler melalui pengurutan *DNA* bakteri (gen 16S *rRNA*) telah digunakan di beberapa dekade (Church et al., 2020). Pengurutan *DNA* dilakukan pada isolat B1-01 dan B1-04 karena hanya keduanya yang memiliki ciri-ciri sebagai bakteri koliform yaitu dapat melakukan fermentasi laktosa. Urutan *DNA* yang didapatkan dicocokkan dengan pangkalan data *National Center for Biotechnology Information (NCBI)*. Hasilnya adalah isolat B1-01 memiliki kemiripan 99,86% dengan *Klebsiella pneumoniae* strain DSM 30104. Sementara itu, B1-04 99,64% mirip dengan *Pseudocitrobacter faecalis* strain 25 CIT (Tabel 5).

Tabel 5. Hasil identifikasi bakteri secara molekuler

Isolat	Spesies	Persentase kemiripan	Nomor aksesi
B1-01	<i>Klebsiella pneumoniae</i> strain DSM 30104	99,86%	NR_117683.1
B1-04	<i>Pseudocitrobacter faecalis</i> strain 25 CIT	99,64%	NR_125690.1

K. pneumoniae tergolong bakteri koliform. Bakteri ini sering ditemukan di usus manusia atau mamalia (Boleng, 2015). Gorrie et al. (2017) menyatakan bakteri ini menjadi bagian dari mikrobioma manusia. Meskipun begitu, bakteri ini dapat menyebabkan infeksi, walaupun belum diketahui dengan jelas penyebabnya. Gorrie et al. (2017) juga melaporkan 50% pasien yang terinfeksi bakteri ini berasal dari mikrobiota mereka sendiri. Hasil uji TSIA isolat B1-01 sama seperti hasil dari *K. pneumoniae* yaitu mampu menghasilkan gas dan tidak membentuk H_2S (Sayuti, 2015).

Bakteri genus *Pseudocitrobacter* baru dikenalkan pada 2014 oleh Kämpfer et al. (2014). Belum banyak penelitian mengenai bakteri ini. Dalam penelitiannya, Kämpfer et al. (2014) menyebutkan ciri-ciri *Pseudocitrobacter faecalis* yaitu berbentuk batang pendek dan gram negatif. Selain itu bakteri ini dapat melakukan fermentasi glukosa dan laktosa, menghasilkan asam. Hasil uji produksi H_2S bakteri ini memberikan hasil negatif. Beberapa ciri-ciri ini juga ditemukan pada isolat B1-04. *P. faecalis* ditemukan pada

sampel kotoran pasien di Rawalpindi, Pakistan (Kämpfer et al., 2014).

4. Kesimpulan

Hanya sampel air sungai yang ditemukan bakteri koliform. Isolat bakteri yang didapat dari sampel tanah yaitu A3-02, A3-04, A3-05 dan A3-06 tidak termasuk bakteri koliform. Begitu juga dengan isolat C2-03 yang ditemukan di sampel jamu. Kelima isolat tersebut memberikan hasil negatif pada uji fermentasi laktosa. Sementara itu, pada sampel air sungai, isolat B1-01 dan B1-04 tergolong bakteri koliform karena memiliki kemampuan memfermentasi laktosa. Hasil pengurutan *DNA* isolat B1-01 menunjukkan kemiripan sebesar 99,86% dengan *Klebsiella pneumoniae* strain DSM 30104 sedangkan B1-04 memiliki kemiripan 99,64% dengan *Pseudocitrobacter faecalis* strain 25 CIT. Maka dari itu, kedua isolat tersebut dapat dijadikan contoh bakteri koliform pada praktikum di Laboratorium TRP misalnya saat mempelajari cemaran mikroba pada produk olahan pangan.



5. Ucapan Terima Kasih (*Optional*)

Penelitian ini dibiayai oleh DIPA Politeknik Negeri Jember SP DIPA - SP DIPA-023.18.2.677607/2021 23 November 2020, Tahun Anggaran 2021.

6. Daftar Pustaka

- Aryantha, I. N. P., & Dwiantara, W. S. (2019). Aktivitas Larvisidal Ekstrak Etil Asetat dan Heksana dari Filtrat *Beauveria bassiana* terhadap *Aedes aegypti*. *Berita Biologi*, 18(3), 359-364. <https://doi.org/10.14203/beritabiologi.v18i3.3618>
- Badan POM RI. (2019). Pedoman Penerapan Peraturan Badan POM tentang Cemaran Mikroba dalam Pangan Olahan. Direktorat Standardisasi Pangan Olahan Badan POM RI.
- Boleng, D. T. (2015). *Bakteriologi Konsep-Konsep Dasar*. Universitas Muhammadiyah Malang.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2020). *Microbiology: a Laboratory Manual Twelfth Edition*. Pearson Higher Ed.
- Church, D. L., Cerutti, L., Gürtler, A., Griener, T., Zelazny, A., & Emler, S. (2020). Performance and Application of 16S rRNA Gene Cycle Sequencing for Routine Identification of Bacteria in the Clinical Microbiology Laboratory. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(4), e00053-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00053-19>
- Edeghor, U., Lennox, J., Agbo, B. E., & Aminadokiari, D. (2016). Bread Fermentation Using Synergistic Activity between Lactic Acid Bacteria (*Lactobacillus bulgaricus*) and Baker's Yeast (*Sacchromyces cerevisiae*). *Pak. J. Food Sci*, 26, 46-53.
- Gorrie, C. L., Mirceta, M., Wick, R. R., Edwards, D. J., Thomson, N. R., Strugnell, R. A., Pratt, N. F., Garlick, J. S., Watson, K. M., Pilcher, D. V., McGloughlin, S. A., Spelman, D. W., Jenney, A., & Holt, K. E. (2017). Gastrointestinal Carriage Is a Major Reservoir of *Klebsiella pneumoniae* Infection in Intensive Care Patients. *Clinical Infectious Diseases: an Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 65(2), 208–215. <https://doi.org/10.1093/cid/cix270>
- Heitzinger, K., Hawes, S. E., Rocha, C. A., Alvarez, C., & Evans, C. A. (2020). Assessment of the Feasibility and Acceptability of Using Water Pasteurization Indicators to Increase Access to Safe Drinking Water in the Peruvian Amazon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(1), 455–464. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0963>
- Kämpfer, P., Fuglsang-Damgaard, D., Overballe-Petersen, S., Hasman, H., Hammerum, A. M., Fuursted, K., Blom, J., Glaeser, S. P., & Hansen, F. (2020). Taxonomic Reassessment of the Genus *Pseudocitrobacter* using Whole Genome Sequencing: *Pseudocitrobacter anthropi* is a Later Heterotypic Synonym of *Pseudocitrobacter faecalis* and Description of *Pseudocitrobacter vendiensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 70(2), 1315–1320. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003918>
- Kämpfer, P., Glaeser, S. P., Raza, M. W., Abbasi, S. A., & Perry, J. D. (2014). *Pseudocitrobacter* gen. nov., a Novel Genus of the Enterobacteriaceae with Two New Species *Pseudocitrobacter faecalis* sp. nov., and *Pseudocitrobacter anthropi* sp. nov, Isolated from Fecal Samples from Hospitalized Patients in Pakistan. *Systematic and Applied Microbiology*, 37(1), 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2013.08.003>
- Kashef, N., & Hamblin, M. R. (2017). Can Microbial Cells Develop Resistance to Oxidative Stress in Antimicrobial Photodynamic Inactivation?. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 31, 31–42. <https://doi.org/10.1016/j.drup.2017.07.003>
- Lewerissa, F., & Kaihena, M. (2014). Analisis kualitatif Bakteri Coliform dan Fecal Coliform pada Mata Air Desa Saparua Kecamatan Saparua Kabupaten Maluku Tengah. *Prosiding Seminar Nasional* (pp. 353-365).
- Litvak, Y., Mon, K., Nguyen, H., Chanthavixay, G., Liou, M., Velazquez, E. M., Kutter, L., Alcantara, M. A., Byndloss, M. X., Tiffany, C. R., Walker, G. T., Faber, F., Zhu, Y., Bronner, D. N., Byndloss, A. J., Tsoilis, R. M., Zhou, H., & Bäumlner, A. J. (2019). Commensal Enterobacteriaceae Protect against *Salmonella* Colonization through Oxygen Competition. *Cell Host & Microbe*, 25(1), 128–139.e5. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2018.12.003>
- Madigan, M.T., Clark, D.P., Stahl, D. and Martinko, J.M. (2015). *Brock Biology of Microorganisms 14th Edition*. Benjamin Cummings.
- Novita, E., Pradana, H. A., & Dwija, S. P. (2020). Water Quality Assessment at Bedadung River in Jember Regency. *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam Dan Lingkungan (Journal of Natural Resources and Environmental Management)*, 10(4), 699-714. <https://doi.org/10.29244/jpsl.10.4.699-714>
- Nursuci, W. K. (2014). Penambahan Jamur Shiitake (*Lentinula edodes*) pada Sosis Fermentasi Ayam (Tugas Akhir, Politeknik Negeri Jember).
- Puspitasari, R.L., Elfidasari, D., Aulunia, R. and Ariani, F. (2017). Studi Kualitas Air Sungai Ciliwung Berdasarkan Bakteri Indikator Pencemaran Pasca Kegiatan Bersih Ciliwung 2015. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains Dan Teknologi*, 3(3), pp.156-162. <http://dx.doi.org/10.36722/sst.v3i3.222>
- Rahmawati, W. (2010). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Fenolik dari Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dan



Pemanfaatannya sebagai antibakteri (Skripsi, Universitas Airlangga).

Reyes, A. T. (2018). Morpho-biochemical Aided Identification of Bacterial Isolates from Philippine Native pig. *Adv. Pharmacol. Clin. Trials*, 3(5), 000148. <https://doi.org/10.23880/apct-16000148>

Sayuti, S. I. (2015). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Limbah Cair Minyak Bumi Gs Cevron Pasifik Indonesia di Desa Benar Kecamatan Rimba Melintang Rokan Hilir. *SEMIRATA* 2015, 4(1).

