

Kepekaan *Enterobacteriaceae* Asal Cobek Batu Gado-Gado Terhadap *Amoxicillin*, *Chloramphenicol*, dan *Tetracycline*

Fathin Hamida^{1*}, Ratna Ambarsari¹, Yayah Siti Djuhariah¹, Fahri Fahrudin², Munawarohthus Sholikha¹

¹Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh. Kahfi II. Srengseng Sawah, Jakarta Selatan, 12640 Indonesia

²Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir H. Juanda No.95, Ciputat, Kec. Ciputat Tim., Kota Tangerang Selatan, Banten 15412 Indonesia

*E-mail korespondensi: fathinfarmasi@istn.ac.id

ABSTRAK

Gado-gado merupakan makanan yang disajikan dari sayur-sayuran. Cobek batu menjadi salah satu alat yg digunakan untuk mengolah bumbu gado-gado. Penyimpanan cobek batu yang tidak tepat dan penggunaan cobek batu berkali-kali tanpa pencucian sering dilakukan oleh penjual gado-gado. Hal ini memberikan peluang terjadinya kontaminasi bakteri pada cobek batu. *Enterobacteriaceae* sebagian besar merupakan bakteri patogen pada manusia, hewan, dan tumbuhan. *Enterobacteriaceae* sering ditemukan sebagai agen kontaminan pada makanan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri *Enterobacteriaceae* dari cobek batu penjual gado-gado dan menguji kepekaan isolat tersebut terhadap antibiotik. Karakterisasi aktivitas biokimia dilakukan meliputi uji katalase, indol, MR-VP, sitrat, dan TSIA. Uji kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap antibiotik menggunakan metode difusi cakram (*Kirby-Bauer*). Enam isolat bakteri *Enterobacteriaceae* berhasil diisolasi dari cobek batu. Hasil karakterisasi aktivitas biokimia menunjukkan bahwa enam isolat tersebut merupakan *Klebsiella pneumoniae* (CB1B), *Serratia fonticola*, (CB3B) *Salmonella enterica*, (CB4A), *Proteus mirabilis* (CB1A), dan *Enterobacter* sp. (CB2A dan CB2B). Berdasarkan uji kepekaan antibiotik diperoleh bahwa tiga isolat yaitu isolat CB1B, CB3B, dan CB4A bersifat resisten terhadap *amoxicillin*, dua isolat yaitu CB1A dan CB2A bersifat intermediet terhadap *amoxicillin*, dan satu isolat yaitu CB2B bersifat sensitif terhadap *amoxicillin*. Seluruh isolat *Enterobacteriaceae* bersifat sensitif terhadap *chloramphenicol* dan *tetracycline*.

Kata Kunci: antibiotik, *Enterobacteriaceae*, gado-gado, resistensi

Susceptibility of Enterobacteriaceae from Cobek Batu Gado-Gado Against Amoxicillin, Chloramphenicol, and Tetracycline

ABSTRACT

Gado-gado is a food served with vegetables. A stone mortar is one of the tools used to process gado-gado spices. Improper storage of stone mortars and repeated use of stone mortars without washing were often done by gado-gado sellers. This provides an opportunity for bacterial contamination in the stone mortar. *Enterobacteriaceae* are mostly pathogenic bacteria in humans, animals, and plants. *Enterobacteriaceae* were often found as contaminating agents in food. This study aimed to isolate *Enterobacteriaceae* bacteria from the stone mortar of gado-gado sellers and test the sensitivity of the isolates against antibiotics. The characterization of biochemical activities carried out includes catalase, indole, MR-VP, citrate, and TSIA tests. The sensitivity test of *Enterobacteriaceae* against antibiotics used the disc diffusion method (*Kirby-Bauer*). Six isolates of *Enterobacteriaceae* bacteria were successfully isolated from the stone mortar. The results of biochemical activity characterization showed that the six isolates were *Klebsiella pneumoniae* (CB1B), *Serratia fonticola*, (CB3B) *Salmonella enterica*, (CB4A), *Proteus mirabilis* (CB1A), and *Enterobacter* sp. (CB2A and CB2B). Based on antibiotic susceptibility tests, it was found that three isolates, namely CB1B, CB3B, and CB4A, were resistant to *amoxicillin*, two isolates, namely CB1A and CB2A, were intermediate to *amoxicillin*, and one isolate, namely CB2B, was sensitive to *amoxicillin*. All *Enterobacteriaceae* isolates were sensitive to *chloramphenicol* and *tetracycline*.

Keywords: antibiotic, *Enterobacteriaceae*, gado-gado, resistance

PENDAHULUAN

Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri basil Gram negatif tidak berspora, anaerob fakultatif, katalase positif dan oksidase negatif (disebabkan tidak memiliki sitokrom-c). Anggota dari famili *Enterobacteriaceae* diantaranya adalah genus *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, dan *Serratia*. Kelompok bakteri ini tersebar luas ditemukan pada tubuh manusia, hewan, serangga, tumbuhan, air, dan tanah. *Enterobacteriaceae* sebagian besar anggotanya adalah bersifat patogen oportunistik penyebab infeksi saluran pencernaan, infeksi paru, infeksi saluran kemih, dan infeksi luka. Sekitar 50% konsumsi antibiotik digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Enterobacteriaceae*. Pengobatan infeksi *Enterobacteriaceae* sering menggunakan antibiotik berspektrum luas seperti *amoxicillin*, *chloramphenicol*, dan *tetracycline* (Moxley, 2022). Tidak sedikit *Enterobacteriaceae* yang dijumpai telah bersifat resisten terhadap beberapa antibiotik (Patilaya et al., 2019; De Angelis et al., 2020; Kurniati et al., 2022). Infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik dapat menghambat proses penyembuhan dan membahayakan kesehatan (kunder et al., 2014). Jalur kejadian infeksi pada tubuh dapat terjadi salah satunya melalui makanan. Penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* seperti *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, dan *Serratia* merupakan bakteri yang sering ditemukan sebagai agen kontaminan pada makanan gado-gado (Anita et al., 2022; Nurhayati et al., 2024).

Gado-gado adalah makanan khas Indonesia yang terbuat dari aneka sayuran segar (mentah) atau direbus setengah matang seperti kol, tauge, kacang panjang, dan mentimun, pare, ditambah bahan pelengkap berupa kentang rebus, telur rebus, lontong kemudian dicampur dengan sambal kacang (Yuniatun et al., 2017). Gado-gado merupakan salah satu makanan siap saji yang berpotensi terkontaminasi oleh mikroba karena kondisinya yang optimum untuk pertumbuhan mikroba. Bumbu gado-gado dibuat secara langsung tanpa pemasakan, hal ini memudahkan bakteri tumbuh dengan cepat sehingga menyebabkan gado-gado mudah rusak dan busuk. Selain itu, kontaminasi silang juga dapat terjadi pada gado-gado, baik berasal dari bahan sayuran yang digunakan, peralatan, air cucian, dan perilaku penjual yang tidak memperhatikan kebersihan (Anita et al., 2022). Bahan gado-gado disimpan di dalam etalase yang tidak terawat pada suhu ruang (tanpa kulkas), bahkan terkadang etalase tidak ditutup. Selain itu, penjual seringkali tidak memiliki fasilitas sanitasi dengan air mengalir. Kondisi ini membuat gado-gado sangat rentan terhadap kontaminasi mikroba (Nurhayati et al., 2024).

Sambal kacang gado-gado dibuat ketika ada pesanan dan ditumbuk pada cobek yang sudah digunakan berkali-kali dalam satu hari tersebut. Cobek batu, ulekan, atau coet adalah alat masak tradisional yang sampai saat ini sering digunakan untuk melumat, menumbuk, menggiling, atau mencampur bumbu masakan. Cobek

batu memiliki pori-pori yang berpotensi menjadi tempat pertumbuhan mikroorganisme. Pencucian cobek batu yang jarang dilakukan serta dibiarkan terbuka tanpa penutup dapat memengaruhi jumlah mikroba yang tumbuh di dalam pori. Bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* spp. dapat bertahan pada pori-pori alat masak dan mengontaminasi makanan yang dibuat menggunakan alat masak tersebut. Jika makanan tersebut dikonsumsi maka dapat membahayakan kesehatan (Aviat et al., 2016). Penyimpanan cobek batu di tempat terbuka memberikan peluang untuk terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme. Kontaminasi dapat terjadi melalui kontak langsung dengan udara maupun kontak dengan serangga yang hinggap pada permukaan cobek batu seperti lalat dan kecoa. Penelitian sebelumnya telah dilaporkan bahwa *Enterobacteriaceae* yang bersifat resisten terhadap antibiotik telah ditemukan pada tubuh lalat dan kecoa (Rihibiha & Friliansari, 2021; Aji, 2020; Kundera et al., 2020). Studi yang melakukan isolasi bakteri *Enterobacteriaceae* dari cobek batu gado-gado dan menguji kepekaannya terhadap antibiotik *amoxicillin*, *chloramphenicol*, dan *tetracycline* belum pernah ada. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk membuktikan keberadaan *Enterobacteriaceae* yang membawa sifat resisten terhadap antibiotik pada cobek batu gado-gado sehingga dapat menjadi informasi rujukan mengenai penyebaran *Enterobacteriaceae* yang bersifat resisten terhadap antibiotik.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. NaCl 0,9% steril. Medium SSA (*Salmonella-shigella agar*) (Himedia), Medium TSIA (*Triple sugar iron agar*) (Oxoid), Medium SIM (*Sulfide indole motility*) (Oxoid), *Methyl red & voges proskauer broth* (MR-VP Broth) (Merck), Medium SCA (*Simmon's citrate agar*), reagen Kovac's. Zat pereaksi pewarnaan Gram yaitu kristal violet, iodin/lugol, safranin, alkohol 96%, akuades steril, dan minyak imersi. Medium MHA (*Mueller Hinton agar*) (Merck), *amoxicillin disc* 20 µg, *chloramphenicol disc* 30 µg, *tetracycline disc* 30 µg.

Persiapan Sampel. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah cobek batu. Cobek batu yang digunakan pada penelitian ini yaitu cobek batu dalam kondisi yang dianggap bersih oleh penjual gado-gado (setelah dibersihkan oleh penjual sebelum memulai berjualan) yang biasa digunakan oleh penjual gado-gado untuk membuat gado-gado. Cobek batu diperoleh dari 4 penjual gado-gado yang berada di sekitar kelurahan Penjarangan Jakarta Utara, yaitu:

CB 1: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanah Pasir

CB 2: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanjung Wangi 2

CB 3: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanjung Wangi 1

CB 4: pedagang gado-gado yang berjualan di sekitar Jl. Tanah Merah.

Masing – masing cobek batu yang telah dibersihkan oleh Pedagang dibungkus memakai *aluminium foil* steril kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi ISTN.

Isolasi *Enterobacteriaceae* dari Cobek Batu Penjual Gado-Gado. Metode isolasi *Enterobacteriaceae* mengacu pada prosedur Wijaya et al. (2021) yang telah dimodifikasi. Masing-masing cobek batu dibilas secara aseptis menggunakan 10 mL akuades steril dengan cara diusap sekeliling permukaan cobek batu menggunakan *cotton buds* steril. Air bilasan cobek batu dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril menggunakan mikropipet lalu dihomogenisasi menggunakan vortex selama 1 menit. Kemudian, sebanyak 1 mL air bilasan cobek batu yang telah dihomogenisasi dipindahkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl 0,9% steril lalu dihomogenisasi menggunakan vortex selama 1 menit sebagai pengenceran 10^{-1} . Selanjutnya dibuat pengenceran berseri hingga diperoleh pengenceran 10^{-3} . Masing-masing tabung seri pengenceran yang berisi air bilasan cobek batu diambil sebanyak 0,1 mL dan dituang ke permukaan medium cawan SSA (*Salmonella Shigella Agar*) lalu disebar menggunakan batang sebar hingga merata. Selanjutnya, seluruh cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni tunggal bakteri yang tumbuh pada medium cawan SSA dimurnikan (purifikasi) pada medium cawan SSA yang baru dengan cara gores kuadran lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Purifikasi diulangi terhadap koloni tunggal yang tumbuh sampai diperoleh koloni tunggal dengan karakteristik yang seragam pada masing-masing cawan. Setiap koloni tunggal yang diperoleh diinkubasi pada medium tabung miring NA (*Nutrient Agar*) dengan cara gores *zig-zag*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya, tabung miring NA disimpan di dalam *refrigerator* suhu 10°C sebagai kultur stok.

Pewarnaan Gram. Sebanyak satu ose isolat bakteri dibuat olesan bakteri pada kaca objek secara aseptis. Kemudian olesan bakteri diwarnai menggunakan metode pewarnaan Gram. Hasil pewarnaan Gram diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1.000x. Bakteri Gram positif ditunjukkan dengan warna ungu violet/biru tua pada dinding sel bakteri, sedangkan bakteri Gram negatif ditunjukkan dengan warna merah pada dinding sel bakteri yang tampak dibawah pengamatan mikroskop cahaya (Cappucino & Sherman, 2014).

Karakterisasi Biokimia (Mailisa et al., 2022)

1. Uji Katalase

Sebanyak satu tetes H_2O_2 3% diteteskkan pada permukaan kaca objek. Selanjutnya diambil sebanyak satu ose isolat bakteri lalu dicampurkan dengan cara diaduk menggunakan jarum ose pada H_2O_2 3% yang sudah ada pada permukaan kaca objek. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati secara langsung. Katalase positif ditandai dengan terbentuknya buih putih pada campuran tersebut, sedangkan katalase negatif tidak terjadi perubahan atau tidak terbentuk buih pada campuran isolat dengan H_2O_2 3%.

2. Uji Indol, H_2S , dan Motilitas

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinkubasi dengan cara tusuk tegak lurus pada medium tabung tegak semi solid SIM (*Sulfide Indol Moly*). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, masing- masing tabung diberi 5-10 tetes reagen Kovac's. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati. Indol positif ditandai dengan terbentuknya cincin merah pada permukaan medium, sedangkan indol negatif tidak terjadi perubahan atau tidak terbentuk cincin merah pada permukaan medium. Produksi H_2S ditandai dengan terbentuknya endapan hitam pada medium. Medium yang tidak terbentuk endapan hitam menunjukkan tidak ada produksi H_2S . Motilitas ditandai dengan pertumbuhan bakteri di area luar tusukan, pertumbuhan bakteri ditandai dengan warna yang lebih keruh dari medium. Apabila pertumbuhan (keruh) berada di area tusukan hal ini menunjukkan bahwa isolat bersifat non-motil.

3. Uji *Methyl Red* dan *Voges-Proskauer* (MR-VP)

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinkubasi pada medium tabung MR-VP *Broth* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, kultur dipisahkan menjadi dua tabung (menggunakan tabung steril) yaitu tabung 1 untuk uji MR dan tabung 2 untuk uji VP. Uji MR dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 3 tetes indikator merah metil ke dalam kultur lalu diamati perubahan warna yang terjadi. MR positif ditandai dengan warna medium yang berubah menjadi merah, sedangkan MR negatif tidak terjadi perubahan warna (warna kultur tetap kuning). Uji VP dilakukan dengan cara menambahkan sebanyak 10 tetes reagen *Barrit's A* lalu dikocok setelah itu segera ditambahkan 10 tetes reagen *Barrit's B* lalu dikocok dengan selang waktu setiap 3-4 menit. Perubahan warna kultur yang terjadi diamati setelah 15 menit penambahan reagen *Barrit's*. Reaksi VP positif ditandai dengan perubahan warna kultur menjadi merah tua.

4. Uji Sitrat

Sebanyak satu ose biakan isolat bakteri diinkubasi pada permukaan medium tabung agar miring SCA (*Simmon's Citrate Agar*) dengan cara gores *zig-zag*. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati. Perubahan warna medium menjadi biru gelap menunjukkan hasil positif, sedangkan warna medium berwarna hijau menunjukkan hasil negatif.

5. Uji *Triple sugar iron agar* (TSIA)

Sebanyak satu ose biakan isolat bakteri diinkubasi ke medium TSIA dengan cara gores pada bagian agar miring (*slant*) lalu ditusuk tegak lurus pada bagian dasar tabung (*butt*). Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Perubahan/reaksi yang terjadi diamati. Fermentasi karbohidrat ditunjukkan dengan perubahan warna medium menjadi kuning pada bagian medium.

Pengujian Kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap Antibiotik. Uji kepekaan terhadap antibiotik menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*.

Sebanyak 0,1 mL suspensi bakteri (10^8 CFU/mL) ditanam pada medium cawan MHA (*Mueller Hinton Agar*) dengan cara sebar. Selanjutnya, diletakkan kertas cakram antibiotik uji pada permukaan medium. Kemudian medium diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram antibiotik diukur menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan pengulangan sebanyak dua kali pada masing-masing isolat bakteri. Diameter zona hambat yang telah diukur kemudian diinterpretasikan kriteria kepekaannya berdasarkan panduan CLSI (2021) (**Tabel 1**).

Tabel 1. Kategori interpretasi dan Diameter Zona Hambat *Enterobacteriaceae*

Antibiotik	Kriteria Interpretasi		
	Diameter Zona Hambat (mm)		
	S	I	R
Amoxicillin (20 µg)	≥ 18	14 – 17	≤ 13
Tetracycline (30 µg)	≥ 15	12 – 14	≤ 11
Chloramphenicol (30 µg)	≥ 18	13 – 17	≤ 12

Keterangan: S: sensitif; I: intermedier, R: resisten (sumber: CLSI, 2021)

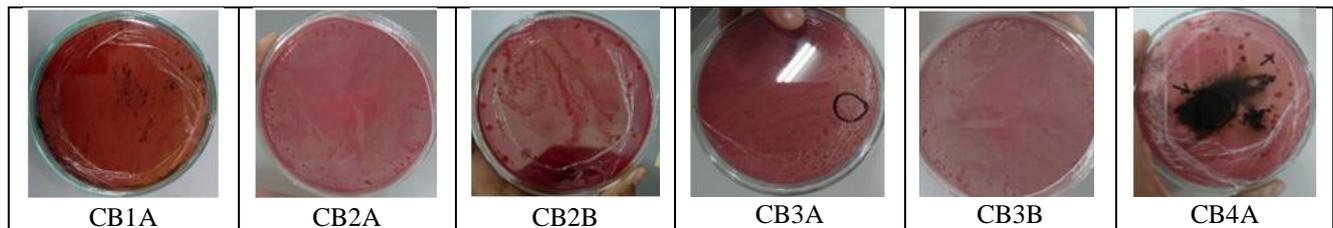
HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi Bakteri *Enterobacteriaceae* Asal Cobek Batu Gado-Gado

Berdasarkan hasil isolasi bakteri dari 5 cobek batu gado-gado diperoleh 6 isolat bakteri. Masing-masing

isolat memiliki karakter morfologi koloni yang bervariasi saat ditumbuhkan pada medium cawan SSA (**Gambar 1**). Karakter morfologi makroskopis koloni 6 isolat bakteri enterik yang berhasil diisolasi dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Isolasi *Enterobacteriaceae* pada penelitian ini menggunakan medium SSA. Medium SSA merupakan medium selektif diferensial yang dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri *Salmonella* dan *Shigella* juga bakteri enterik lainnya seperti *Enterococcus*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Serratia*, dan *Klebsiella*. *Bile salt* pada SSA dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif pada medium (Mailissa et al., 2022). Medium SSA mengandung laktosa berguna untuk membedakan bakteri enterik yang mampu memfermentasi laktosa dengan yang tidak. Proses fermentasi laktosa yang terjadi mengakibatkan kondisi medium menjadi asam (pH rendah). Kondisi asam pada medium ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah pada koloni yang tumbuh akibat reaksi *neutral red* pada medium. Sedangkan bakteri yang tidak mampu memfermentasi laktosa akan tumbuh dengan koloni transparan (*colourless*). Endapan hitam yang terbentuk ditengah koloni merupakan H_2S (hidrogen sulfida) yang dihasilkan oleh bakteri yang tumbuh pada medium SSA. Gas H_2S dilepaskan oleh bakteri yang mampu mereduksi sodium tiosulfat menjadi sulfid. Gas H_2S tidak berwarna tetapi *ferric citrate* dalam medium SSA dapat bereaksi dengan gas H_2S sehingga terbentuk endapan hitam ferro sulfida yang terlihat di tengah koloni (Wijaya et al., 2021).



Gambar 1. Hasil isolasi bakteri *Enterobacteriaceae* dari cobek batu gado-gado

Tabel 2. Karakter morfologi makroskopis koloni isolat bakteri asal cobek batu gado-gado pada medium cawan SSA

Kode Isolat	Karakter Koloni
CB1A	Koloni berwarna merah muda dan ada endapan hitam ditengah koloni, koloni kecil, halus dan elevasi cembung.
CB1B	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam di tengah koloni, koloni bulat dan mukoid.
CB2A	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam ditengah koloni, elevasi datar, dan tepi tidak beraturan.
CB2B	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam ditengah koloni, elevasi datar, dan tepi tidak beraturan.
CB3B	Koloni berwarna merah muda tanpa endapan hitam ditengah koloni, levasi datar, dan tepi tidak beraturan.
CB4A	Koloni tampak transparan dan ada endapan hitam di tengah koloni, bentuk koloni bulat kecil, cenderung cembung dengan tepi rata.

Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram merupakan metode pewarnaan diferensial untuk membedakan kelompok bakteri berdasarkan reaksi dinding sel bakteri dengan zat pewarna. Bakteri berdasarkan reaksi pewarnaan Gram dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Hasil pewarnaan Gram terhadap 6 isolat bakteri enterik asal air bilasan cobek batu dapat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri asal cobek batu gado-gado

Kode Isolat	Bentuk Sel	Reaksi Gram
CB1A	Batang	Negatif
CB1B	Batang	Negatif
CB2A	Batang	Negatif
CB2B	Batang	Negatif
CB3B	Batang	Negatif
CB4A	Batang	Negatif

Berdasarkan hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri merupakan kelompok bakteri Gram negatif berbentuk batang (basil). Reaksi Gram negatif pada pewarnaan Gram ditandai dengan warna merah di permukaan luar sel (dinding sel) yang tampak dibawah mikroskop. Warna merah terjadi akibat reaksi pengikatan dinding sel oleh zat pewarna ke-2 atau pewarna tandingan yaitu safranin. Kristal violet yang mulanya terikat pada dinding sel Gram negatif mengalami peluruhan saat pemberian alkohol 96%. Hal ini disebabkan komposisi penyusun dinding sel Gram negatif didominasi oleh lipid. Lipid akan mudah terurai saat kontak dengan alkohol sehingga menyebabkan zat warna

pertama yaitu kristal violet ikut terurai bersama lipid saat pemberian alkohol 96% (Oktaviani et al., 2022). Bakteri *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang (Moxley, 2022).

Karakterisasi Biokimia

Karakterisasi biokimia pada penelitian ini meliputi uji Indol, *Methyl Red*, *Voges-Proskauer*, Sitrat, TSIA, dan uji katalase. Hasil uji biokimia terhadap 6 isolat bakteri enterik asal cobek batu gado-gado dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Karakterisasi biokimia *Enterobacteriaceae* asal cobek batu gado-gado

Uji Biokimia	CB1A	CB1B	CB2A	CB2B	CB3B	CB4A
Indol	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Motilitas	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
MR	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
VP	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
Sitrat	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Katalase	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
TSIA	A/A	A/A	A/A	A/A	AK/A	AK/A
Gas CO ₂	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)
H ₂ S	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
Hasil Identifikasi	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>Serratia fonticola</i>	<i>Salmonella enterica</i>

Keterangan: (+): hasil positif/ada; (-): hasil negatif/tidak ada; A/A: *slant* asam/*butt* asam; AK/A: *slant* alkalin/*butt* asam

Berdasarkan uji biokimia diketahui bahwa seluruh isolat bakteri enterik asal cobek batu gado-gado bersifat negatif indol. Negatif indol menunjukkan bahwa bakteri tidak menghasilkan enzim triptofanase sehingga tidak mampu memetabolisme triptofan dan mengubahnya menjadi indol (Cahyaningtyas et al., 2024). Negatif indol ditunjukkan oleh tidak terbentuknya cincin merah pada permukaan medium tabung tegak semisolid SIM setelah pemberian reagen *Kovac's*. Sebagian besar *Enterobacteriaceae* tidak menghasilkan indol di dalam medium yang mengandung triptofan (Garrity, 2007).

Seluruh isolat menunjukkan hasil positif pada uji sitrat dan katalase. Hasil positif sitrat ditandai dengan terjadinya perubahan warna medium SCA dari hijau menjadi biru prusia setelah inkubasi 24 jam. Medium SCA mengandung sitrat yang menjadi satu-satunya sumber karbon dalam pertumbuhan bakteri. Kemampuan bakteri menggunakan sitrat tergantung dari kemampuan untuk mentransportasikan sitrat ke dalam sel. *Citruse* atau *citrate lyase* memecah sitrat menjadi asetat dan oksaloasetat. Kemudian oksaloasetat didekarboksilasi membentuk piruvat dan CO₂. Ammonium fosfat yang terkandung pada medium digunakan oleh bakteri sebagai sumber nitrogen dan menghasilkan amoniak. Amoniak yang dihasilkan bereaksi dengan CO₂ yang dilepaskan ke medium hasil dari dekarboksilasi. Hal ini meningkatkan alkalinitas atau pH medium. Alkalinitas medium menyebabkan indikator pH bromtimol biru yang berwarna hijau pada pH netral berubah menjadi biru gelap atau biru Prusia (Fallo & Sine, 2016). Kebanyakan *Enterobacteriaceae* bersifat katalase positif. Katalase positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih setelah kultur dicampurkan dengan hidrogen peroksida (H₂O₂)

3%. Bakteri yang bersifat katalase positif diketahui menghasilkan enzim katalase untuk mendegradasi H₂O₂ menjadi H₂O dan O₂ sehingga tidak bersifat toksik bagi sel (Cahyaningtyas et al., 2024).

Hasil uji MR-VP menunjukkan hasil yang seragam pada 5 isolat yaitu positif MR dan negatif VP. Isolat CB1B satu-satunya isolat yang bersifat negatif MR dan positif VP. Uji MR bertujuan untuk membedakan bakteri enterik pengoksidasi glukosa menghasilkan asam sebagai produk akhir. Hasil positif menunjukkan bahwa bakteri mampu memanfaatkan glukosa sebagai substrat utama menghasilkan asam piruvat selanjutnya secara enzimatik dimetabolisme menjadi asam organik seperti asam laktat, asam format, dsb. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna medium dari kuning menjadi merah disebabkan kondisi pH medium berada pada pH 4 atau lebih rendah. Positif VP menunjukkan bahwa bakteri menghasilkan substansi non asam atau produk akhir bersifat netral seperti asetilmetilkarbinol (asetoin) sebagai hasil metabolisme glukosa (Cahyaningtyas et al., 2024).

Seluruh isolat bakteri asal cobek batu menunjukkan hasil yang bervariasi pada uji TSIA (**Gambar 2-7**). Uji TSIA digunakan untuk membedakan anggota *Enterobacteriaceae* dengan bakteri basil enterik Gram negatif lainnya. Perbedaan didasarkan pada kemampuan memfermentasi jenis karbohidrat, produksi CO₂ dan produksi H₂S. Isolat CB1A, CB1B, CB2A, dan CB2B diketahui memiliki sifat mampu memfermentasi ketiga jenis gula yaitu glukosa, sukrosa, dan laktosa pada medium TSIA. Hal tersebut ditandai dengan terjadi perubahan warna medium dari jingga menjadi kuning baik pada bagian *slant* maupun bagian *butt* medium. Warna kuning pada medium menunjukkan bahwa pH

medium berada pada kisaran pH asam (Kundera *et al.*, 2020). Sedangkan, isolat CB3B dan CB4A hanya mampu memfermentasi jenis gula glukosa selama pertumbuhannya di dalam medium TSIA. Fermentasi tersebut ditandai dengan terjadi perubahan warna menjadi kuning (asam) pada bagian *butt* dan merah (alkalin) pada bagian *slant* medium. Konsentrasi glukosa yang sangat sedikit yaitu 0,1% menyebabkan produksi asam yang sedikit segera dioksidasi. Bagian bawah medium (*butt*) bersifat asam (kuning) akibat tekanan oksigen yang rendah dan pertumbuhan bakteri yang lambat. Pemanfaatan pepton menyebabkan bagian dasar medium (*slant*) bersifat alkalin (merah). Isolat CB1B dan CB4A memproduksi gas CO₂ selama fermentasi di dalam medium TSIA yang ditandai dengan terjadi retak atau medium terangkat ke atas. Isolat CB1A dan CB4A dapat memproduksi H₂S di dalam medium TSIA yang mengandung Na-tiosulfat sebagai substratnya ditandai dengan terbentuk endapan hitam pada medium. Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan sifat biokimianya (Mailissa *et al.*, 2022).

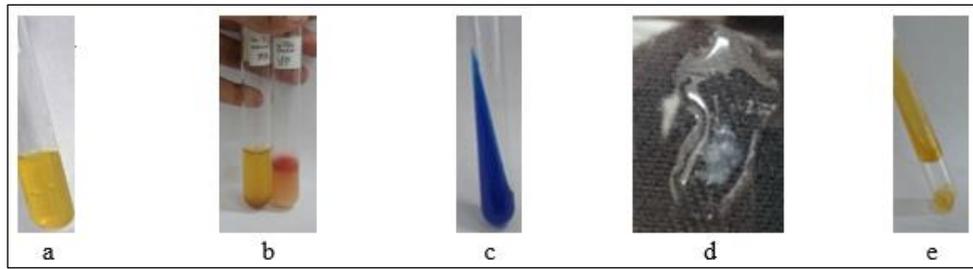
Berdasarkan hasil identifikasi biokimia mengacu pada buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (2007) terhadap seluruh isolat bakteri *Enterobacteriaceae* asal cobek batu diketahui bahwa isolat CB1A merupakan *Proteus mirabilis*, isolat CB1B adalah *Klebsiella pneumoniae*, isolat CB2A dan CB2B adalah *Enterobacter* sp., isolat CB3B adalah *Serratia fonticola*, dan isolat CB4B adalah *Salmonella enterica*. *Proteus mirabilis* dapat ditemukan di air yang terkontaminasi oleh air seni, bakteri ini sering menjadi patogen penyebab infeksi saluran kemih terutama infeksi akibat penggunaan kateter. Bakteri ini termasuk patogen yang sulit diterapi karena sifatnya yang persisten (Yuan *et al.*, 2021). *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri patogen penyebab infeksi paru, bakteri ini dapat diisolasi dari sputum manusia, hasil uji biokimia *Klebsiella pneumoniae* menunjukkan hasil positif pada uji *Voges-Proskauer*, *Simmon's citrate*, dan TSIA (fermentasi karbohidrat), tetapi menunjukkan reaksi negatif pada indol, *Methyl red*, dan motilitas (Patilaya *et al.*, 2019). *Enterobacter* sp. termasuk flora normal pada saluran pencernaan manusia dan hewan, keberadaan bakteri ini

biasanya disebabkan kontaminasi oleh feses, selain itu *Enterobacter* sp. juga dapat ditemukan di permukaan tubuh hewan vektor seperti kecoa (Rihibiha & Friliansari, 2021). *Serratia fonticola* ditemukan pada air dan tanah, selain itu juga ditemukan pada abses kaki, penyebab infeksi saluran empedu dan infeksi endokarditis (Espinoza *et al.*, 2021). *Salmonella enterica* diketahui sebagai bakteri patogen penyebab infeksi demam tifoid (Kurniati *et al.*, 2022).

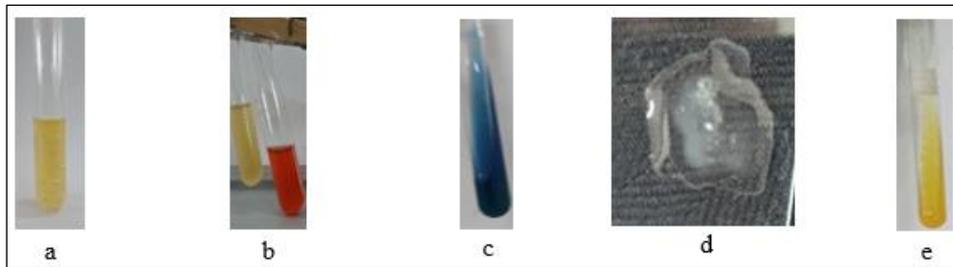
Enterobacteriaceae merupakan kelompok bakteri enterik yang tersebar luas di dunia. Bakteri ini ditemukan di tanah, air, buah, daging, telur, sayuran, dan tubuh hewan (Shodikin *et al.*, 2023; Rihibiha & Friliansari, 2021). Sebagian besar *Enterobacteriaceae* bersifat patogen pada manusia. *Enterobacteriaceae* menyebabkan berbagai penyakit infeksi diantaranya yaitu diare yang ditularkan melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi, septikemia, infeksi saluran pernafasan, infeksi saluran kemih, infeksi luka dan luka bakar, serta meningitis. *Enterobacteriaceae* juga berperan sebagai agen penyebab penyakit nosokomial (Rahayu *et al.*, 2022). Gado-gado adalah makanan yang terbuat dari sebagian besar sayuran mentah atau direbus setengah matang. Keberadaan *Enterobacteriaceae* pada cobek batu dapat diduga berasal dari sayuran yang telah terkontaminasi bakteri. Al-Kharousi *et al.* (2019) melaporkan bahwa pada buah dan sayuran segar ditemukan genus *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, dan *Serratia*. Selain itu, penggunaan air yang terkontaminasi kotoran untuk mencuci sayuran juga berpeluang mengontaminasi sayuran pada gado-gado. Kebersihan perilaku penjual dan sanitasi lingkungan area penjualan gado-gado juga turut berkontribusi dalam kontaminasi cobek batu gado-gado. Yuniatun *et al.* (2017) menjelaskan bahwa terdapat korelasi antara kualitas mikrobiologis gado-gado dengan perilaku dan higienitas sanitasi tempat penjualan gado-gado. Tempat penyimpanan bahan gado-gado dan cobek batu di tempat yang terbuka berpeluang tercemar oleh debu, serangga, dan tikus. Serangga seperti lalat dan kecoa diketahui berperan sebagai vektor kontaminasi bakteri *Enterobacteriaceae* (Rihibiha & Friliansari, 2021; Aji, 2020; Kundera *et al.*, 2020).



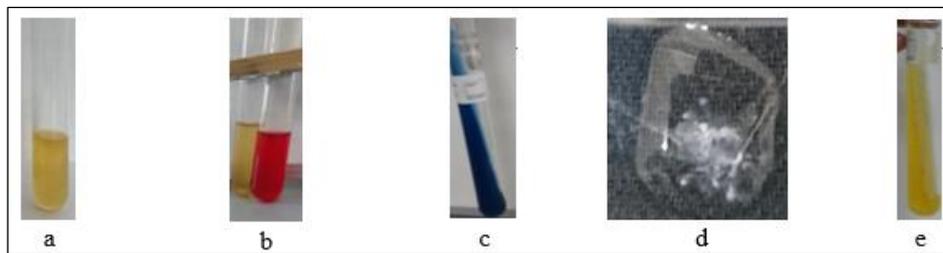
Gambar 2. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB1A. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



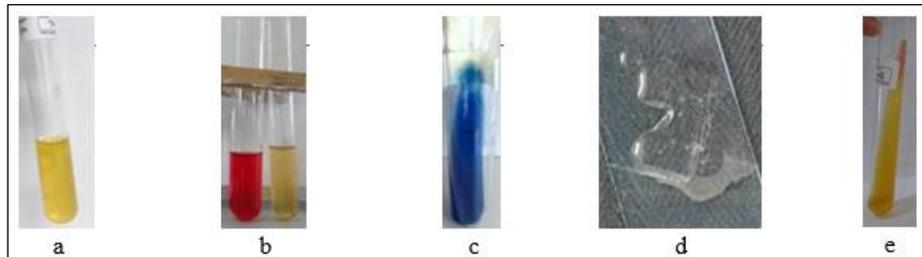
Gambar 3. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB1B. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



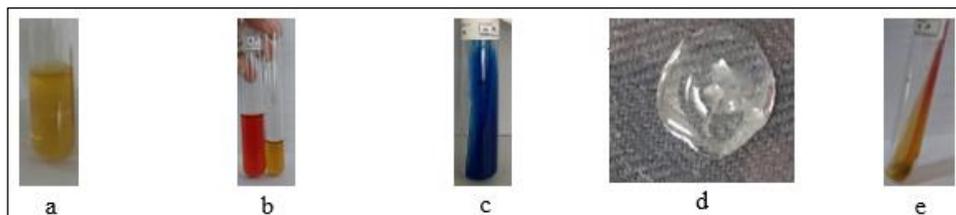
Gambar 4. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB2A. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



Gambar 5. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB2B. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



Gambar 6. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB3B. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA



Gambar 7. Hasil pengamatan uji aktivitas biokimia isolat CB4A. (a) medium SIM; (b) medium MR-VP; (c) medium sitrat; (d) uji katalase; (e) medium TSIA

Kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap Antibiotik

Uji kepekaan antibiotik pada penelitian ini ditentukan dengan cara pengukuran zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram antibiotik. Kepekaan

terhadap antibiotik dibedakan menjadi tiga kriteria yaitu sensitif (S), intermediet (I), dan resisten (R) (CLSI, 2021). Isolat *Enterobacteriaceae* menunjukkan sifat kepekaan yang bervariasi terhadap antibiotik uji (**Tabel 5**).

Tabel 5. Kepekaan *Enterobacteriaceae* terhadap antibiotik

Kode Isolat	Diameter Zona Hambat (mm) / [Kriteria Kepekaan terhadap Antibiotik]		
	Amoxicillin 20 µg	Chloramphenicol 30 µg	Tetracycline 30 µg
CB1A (<i>Proteus mirabilis</i>)	16±0,70 [I]	28±0,28 [S]	21,5±0,00 [S]
CB1B (<i>Klebsiella pneumoniae</i>)	8,5±0,00 [R]	22±0,00 [S]	24±0,14 [S]
CB2A (<i>Enterobacter</i> sp.)	14±0,42 [I]	28±0,00 [S]	21±0,14 [S]
CB2B (<i>Enterobacter</i> sp.)	26±0,14 [S]	33,5±0,00 [S]	22,5±0,00 [S]
CB3B (<i>Serratia fonticola</i>)	6,5±0,00 [R]	25±0,00 [S]	27±0,00 [S]
CB4A (<i>Salmonella enterica</i>)	7,5±0,00 [R]	24,5±0,00 [S]	24±0,42 [S]

Seluruh isolat *Enterobacteriaceae* menunjukkan sifat sensitif terhadap *chloramphenicol* dan *tetracycline* (**Gambar 8**). Sifat sensitif ini menunjukkan bahwa *chloramphenicol* dan *tetracycline* efektif menghambat pertumbuhan *Enterobacteriaceae* pada penelitian ini. Kedua antibiotik ini bekerja dengan cara menghambat proses translasi sel. *Chloramphenicol* mengikat ribosom subunit 50S mengakibatkan proses sintesis protein terhambat. Resistensi bakteri terhadap *chloramphenicol*

disebabkan oleh teraktivasi enzim CAT (*chloramphenicol acetyltransferase*) iredehingga menginaktivasi *chloramphenicol* (Nurtjahyani, 2014). *Tetracycline* memblokir proses translasi dengan cara mengikat ribosom subunit 30S. Prinsip mekanisme resistensi bakteri terhadap *tetracycline* yaitu dengan cara pompa *efflux* dan proteksi ribosom (Roberts & Schwarz, 2017).

**Gambar 8.** Uji Kepekaan isolat *Enterobacteriaceae* asal cobek batu gado-gado terhadap antibiotik amoxicillin, chloramphenicol, dan tetracycline

Tiga isolat yaitu isolat CB1B (*Klebsiella pneumoniae*), CB3B (*Serratia fonticola*), dan CB4A (*Salmonella enterica*) bersifat resisten terhadap amoxicillin, dua isolat yaitu CB1A (*Proteus mirabilis*) dan CB2A (*Enterobacter* sp.) bersifat intermediet terhadap amoxicillin, dan satu isolat yaitu CB2B (*Enterobacter* sp.) bersifat sensitif terhadap amoxicillin. Amoxicillin merupakan antibiotik semisintetik derivat dari penisilin golongan beta-laktam yang secara struktural sebanding dengan ampisilin tetapi lebih mudah diserap oleh tubuh. Antibiotik ini berspektrum luas dan efektif digunakan untuk melawan beberapa bakteri penyebab infeksi paru, abses gigi, infeksi saluran kemih, dan infeksi telinga pada anak. Amoxicillin bekerja dengan cara menghambat sintesis transpeptidasi pada peptidoglikan sehingga menyebabkan lisis pada dinding sel bakteri (Fazulbhoy et al., 2021). Resistensi bakteri Gram negatif terhadap antibiotik golongan beta-laktam sering ditemukan. Hal ini disebabkan kemampuan bakteri menghasilkan berbagai enzim beta-laktamase yang dapat mendegradasi cincin beta-laktam pada struktur penyusun antibiotik sehingga menjadi inaktif (Patilaya et al., 2019). Resistensi antibiotik dapat disebabkan oleh faktor genetik atau non genetik. Sifat genetik menyebabkan suatu strain

membawa sifat resisten antibiotik secara alamiah. Suatu strain yang semula sensitif terhadap antibiotik tertentu kemudian berubah menjadi tidak sensitif terhadap antibiotik tersebut, hal ini dapat disebabkan strain tersebut memperoleh transfer elemen genetik pembawa sifat resisten dari strain lain di lingkungannya (Suarnata et al., 2018). Isolat CB2B (*Enterobacter* sp.) bersifat sensitif terhadap amoxicillin diduga isolat tersebut tidak memiliki faktor penyebab resisten (Iredell et al., 2016). Sifat intermediet suatu strain bakteri terhadap antibiotik dalam suatu pengujian menggunakan metode Kirby-Bauer dapat dipengaruhi oleh faktor teknis pengujian yang perlu dievaluasi kembali (CLSI, 2021).

Keberadaan *Enterobacteriaceae* yang bersifat resisten terhadap antibiotik pada penelitian ini dapat diduga berasal dari kontaminasi dan faktor sanitasi yang rendah seperti penggunaan cobek batu yang berkali-kali tanpa pencucian selama seharian dan tempat penyimpanan cobek batu di ruang terbuka. Penyimpanan cobek batu di ruang terbuka memberi potensi terjadinya kontaminasi mikrob yang dibawa oleh debu, dan serangga. Aji (2020) melaporkan bahwa *Enterobacteriaceae* yang diisolasi dari lalat (*Musca domestica*) membawa sifat resistensi terhadap

amoxicillin, chloramphenicol, dan tetracycline. *Escherichia coli*, *Salmonella arizonae*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, dan *Proteus mirabilis* yang diisolasi dari permukaan kaki kecoa (*Periplaneta americana*) bersifat resisten terhadap amoxicillin dan chloramphenicol. Keberadaan Enterobacteriaceae yang bersifat resisten terhadap antibiotik tentunya dapat membahayakan kesehatan konsumen dan menurunkan kualitas gado-gado. Kontaminasi mikrob pada cobek batu gado-gado dapat dikendalikan dengan memperbaiki sanitasi bahan dan alat yang digunakan.

KESIMPULAN

Diperoleh enam isolat Enterobacteriaceae dari cobek batu gado-gado yaitu isolat CB1A (*Proteus mirabilis*), isolat CB1B (*Klebsiella pneumoniae*), isolat CB2A dan CB2B (*Enterobacter* sp.), isolat CB3B (*Serratia fonticola*), dan isolat CB4B (*Salmonella enterica*). *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia fonticola*, dan *Salmonella enterica* bersifat resisten terhadap Amoxicillin, *Proteus mirabilis* dan *Enterobacter* sp. bersifat intermediet terhadap amoxicillin, dan *Enterobacter* sp. bersifat sensitif terhadap amoxicillin. Seluruh isolat Enterobacteriaceae bersifat sensitif terhadap chloramphenicol dan tetracycline.

DAFTAR PUSTAKA

- Aji, O. R. (2020). Analisis resistensi antibiotik pada bakteri yang berasosiasi dengan lalat (*Musca domestica*). *Quagga: Jurnal Pendidikan dan Biologi*, 12(1), 11-16.
- Al-Kharousi, Z.S., Guizani, N., Al-Sadi, A.M., & Al-Bulushi, I.M. (2019). Antibiotic resistance of Enterobacteriaceae isolated from fresh fruits and vegetables and characterization of their AmpC β -lactamases. *Journal of food protection*, 82(11), 1857-1863.
- Anita, Tosepu, R., Nirmala G.F. (2022). Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp pada gado-gado yang dijual area kampus Universitas Halu Oleo Tahun 2021. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Celebes*, 3(1), 1-8.
- Aviat, F., Gerhards, C., Rodriguez-Jerez, J.J., Michel, V., Bayon, I.L., Ismail, R., & Federighi, M. (2016). Microbial safety of wood in contact with food: a review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 15(3), 491-505.
- Cahyaningtyas, D.E., Gaina, C.D., & Tangkonda, E. (2024). Isolasi dan identifikasi bakteri *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., dan *Staphylococcus aureus* pada ambing dan susu kambing peranakan etawa. *Jurnal Veteriner Nusantara*, 7(1), 41-52.
- Cappucino, J.G. & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual*. 10th ed. Boston: Pearson.
- CLSI. Clinical Laboratory Standard Institute. (2021). *M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing 31st ed*. USA: CLSI
- De Angelis, G., Del Giacomo, P., Posteraro, B., Sanguinetti, M., & Tumbarello, M. (2020). Molecular mechanisms, epidemiology, and clinical importance of β -lactam resistance in Enterobacteriaceae. *International journal of molecular sciences*, 21(14), 5090.
- Espinoza, V., Valdez, M., Burcovschi, S., Fong, I., Petersen, G., & Heidari, A. (2021). The first case report of endocarditis caused by *Serratia fonticola*. *Journal of Investigative Medicine High Impact Case Reports*, 9, 1-3.
- Fallo, G., & Sine, Y. (2016). Isolasi dan uji biokimia bakteri selulolitik asal saluran pencernaan rayap pekerja (*Macrotermes* spp.). *BIO-EDU: Jurnal Pendidikan Biologi*, 1(2), 27-29.
- Fazulbhoj, R., Khan, A., D'souza, L. A., Dave, N., & Chandu, P. (2021). A comparative analysis of amoxicillin and cefuroxime. *Int J Sci Res Sci Technol*, 8, 96-124.
- Garrity, G. (2007). *Bergey's manual® of systematic bacteriology: volume 2: the Proteobacteria, part B: the Gammaproteobacteria (Vol. 2)*. USA: Springer Science & Business Media.
- Iredell, J., Brown, J., & Tagg, K. (2016). Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *BMJ* 352: h6420.
- Kemenkes RI. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2003). *Kepmenkes RI No. 942/MENKES/SK/ VII/ 2003 tentang Pedoman Persyaratan Hygiene Sanitasi Makanan Jajanan*. Jakarta: Kemenkes.
- Kundera, I.N., Sapu, E.H., & Bialangi, M. (2020). Identification of bacteria on cockroach feet (*Periplaneta americana*) in resident bay of palu permai and sensitivity test against antibiotics. *Techno: Jurnal Penelitian*, 9(1), 353-362.
- Kurniati, E., Retnaningrum, E., Wijayanti, N., & Wibawa, T. (2022). The diversity and susceptibility against antibiotics of *Salmonella* spp. clinical isolates from Yogyakarta, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(11).
- Mailissa, M.R., Budiarmo, T.Y., & Amarantini, C. (2022). screening bakteri coliform pada air minum isi ulang di damiu, kec. Umbulharjo Yogyakarta. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 10, 212-219.
- Moxley, R.A. (2022). Family Enterobacteriaceae. Dalam: , D.S. McVey, M. Kennedy, & C. Czuprynski (Eds). *Veterinary Microbiology* (4th ed, 43-107). USA: Wiley Blackwell.
- Nurhayati, N., Ruriani, E., & Fitriana, I. (2024). Biosafety of gado-gado street food around Jember campus. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1338 (1), 012042.
- Nurtjahyani, S.D. (2014). Role of chloramphenicol acetyltransferase (cat) enzyme for early detection of chloramphenicol resistant *Salmonella typhi*. *Microbiology Indonesia*, 8(2), 6.
- Oktaviani, N., Sulistiyawati, I., & Rahayu, N.L. (2022). Isolasi dan karakterisasi umum mikroba yang diduga enterobacteriaceae pada jajanan di wilayah

- Purwokerto menggunakan medium EMBA. *Scientific Timeline*, 2(1), 41-51.
- Patilaya, P., Husori, D.I., & Marhafanny, L. (2019). Susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* isolated from pus specimens of post-surgery patients in Medan, Indonesia to selected antibiotics. *Open access Macedonian journal of medical sciences*, 7(22), 3861.
- Rahayu, P.M., Hartati, H., & Sulfiani, S. (2022). Identification of bacteria in the urine of women with urinary tract infections (Uti) At Primaya Hospital Makassar. *International Journal of Health and Pharmaceutical (IJHP)*, 2(3), 460-462.
- Rihibiha, D., & Friiliansari, L.P. (2021). Isolasi *Enterobacteriaceae* pada kecoa (*Periplaneta americana*) di area perumahan di kota Cimahi. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(1), 17-21.
- Roberts, M.C., & Schwarz, S. (2017). Tetracycline and chloramphenicol resistance mechanisms. Dalam: D.L. Mayers, J.D. Sobel, M. Ouellette, K.S. Kaye, D. Marchaim (Eds.). *Antimicrobial drug resistance: mechanisms of drug resistance, volume 1* (2nd ed, 231-243). Switzerland: Springer International Publishing.
- Sedláková, M.H., Urbánek, K., Vojtová, V., Suchánková, H., Imwensi, P., & Kolář, M. (2014). Antibiotic consumption and its influence on the resistance in *Enterobacteriaceae*. *BMC research notes*, 7, 1-10.
- Shodikin, M.A., Suswati, E., Hermansyah, B., Utami, W.S., Aryadina, D., & Amirsyah, N.N.O. (2023). The correlation between food hygiene and sanitation in food vendors of lalapan with *Enterobacteriaceae* contamination in fresh vegetables. *Journal of Health Sciences*, 16(01), 66-76.
- Suarnata, I.W., Suarjana, I.G.K., & Rompis, A.L.T. (2018). *Enterobacter* sp. pada sapi Bali menurut geografis dan tingkat kedewasaan serta pola kepekaannya terhadap antibiotika. *Buletin Veteriner Udayana Volume*, 10(2), 154-161.
- Wijaya, S.N., Ariestanti, C.A., & Budiarmo, T.Y. (2021). deteksi bakteri enteropatogen pada produk makanan jajanan tahu. *Prosiding ESEC*, 2(1), 139-147.
- Yuan, F., Huang, Z., Yang, T., Wang, G., Li, P., Yang, B., & Li, J. (2021). Pathogenesis of *Proteus mirabilis* in catheter-associated urinary tract infections. *Urologia internationalis*, 105(5-6), 354-361.
- Yuniatun, T., Martini, M., Purwantisari, S., & Yuliatwati, S. (2017). Hubungan higiene sanitasi dengan kualitas mikrobiologis pada makanan gado-gado di Kecamatan Tembalang Kota Semarang. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 5(4), 491-499.