

**Identifikasi Molekuler Coliform pada Air Hujan
sebagai Air Minum**

SKRIPSI



**Kurmia Citra Tandipare
31160056**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2021**

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI/TESIS/DISERTASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Kristen Duta Wacana, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kurmia Citra Tandipare
NIM : 31160056
Program studi : Biologi
Fakultas : Bioteknologi
Jenis Karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Kristen Duta Wacana **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (None-exclusive Royalty Free Right)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**“IDENTIFIKASI MOLEKULER COLIFORM PADA AIR HUJAN
SEBAGAI AIR MINUM”**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti/Noneksklusif ini Universitas Kristen Duta Wacana berhak menyimpan, mengalih media/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama kami sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Yogyakarta
Pada Tanggal : 3 Februari 2021

Yang menyatakan



(Kurmia Citra Tandipare)
NIM.31160056

Identifikasi Molekuler Coliform pada Air Hujan sebagai Air Minum

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Sains (S.Si.)
pada Program Studi Biologi, Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana



**Kurmia Citra Tandipare
31160056**

**Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana
Yogyakarta
2021**

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Identifikasi Molekuler Coliform pada Air Hujan sebagai Air Minum
Nama Mahasiswa : Kurmia Citra Tandipare
NIM : 31160056
Pembimbing Utama : Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
Pembimbing Pendamping : Dr. Suhendra Pakpahan
Hari/Tanggal Presentasi : Rabu, 3 Februari 2021

Disetujui oleh:

Pembimbing I



Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
NIK: 904 E 146

Pembimbing II



Dr. Suhendra Pakpahan

Ketua Program Studi Biologi




Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.
NIK : 884 E 075

LEMBAR PENGESAHAN

Skripsi dengan judul:

IDENTIFIKASI MOLEKULER COLIFORM PADA AIR HUJAN SEBAGAI AIR MINUM

telah diajukan dan dipertahankan oleh:

KURMIA CITRA TANDIPARE

31160056

dalam Ujian Skripsi Program Studi Biologi
Fakultas Bioteknologi
Universitas Kristen Duta Wacana

dan dinyatakan DITERIMA sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains
pada tanggal 3 Februari 2021

Nama Dosen

1. Dr. Dhira Satwika, M.Sc.
(Dosen Pembimbing Utama/Ketua Tim Penguji)
2. Dr. Suhendra Pakpahan
(Dosen Pembimbing Pendamping/Penguji II)
3. Dr. Charlie Ester de Frees, S.Si., M.Sc.
(Dosen Penguji III)

Tanda Tangan

Yogyakarta, 3 Februari 2021

Disahkan oleh:



Dekan,

Drs. Kisworo, M.Sc.

Ketua Program Studi,

Dra. Aniek Prasetyaningsih, M.Si.

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Kurmia Citra Tandipare

NIM : 31160056

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul:

“Identifikasi Molekuler Coliform pada Air Hujan sebagai Air Minum”

adalah hasil karya saya dan bukan merupakan duplikasi sebagian atau seluruhnya dari karya orang lain, yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu di dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya secara sadar dan bertanggung jawab dan saya bersedia menerima sanksi pembatalan skripsi apabila terbukti melakukan duplikasi terhadap skripsi atau karya ilmiah lain yang sudah ada.

Yogyakarta, 2021



(Kurmia Citra Tandipare)

31160056

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Kuasa, karena atas berkat, rahmat dan anugerah-Nya sehingga dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Identifikasi Molekuler Coliform pada Air Hujan Sebagai Air Minum”. Proses penelitian hingga penulisan skripsi ini dapat diselesaikan berkat bimbingan, motivasi dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan penyertaanNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.
2. Dr. Dhira Satwika, M.Sc., selaku pembimbing utama atas dedikasi, motivasi dan dukungan dalam membimbing penulis selama proses penelitian hingga penyelesaian skripsi.
3. Dr. Suhendra Pakpahan, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan dukungan dan arahan selama proses penyelesaian skripsi.
4. Dosen-dosen, staf admin dan laboran Fakultas Biotehnologi UKDW atas bantuan dan bimbingannya selama proses penelitian.
5. Kedua orang tua yang selalu memberi dukungan doa sehingga mendorong dan memotivasi penulis untuk selalu melakukan yang terbaik.
6. Semua sahabat, teman-teman seperjuangan, dan berbagai pihak yang selalu memberikan semangat dan dukungan.
7. Sekolah Air Hujan Banyu Bening atas kerja sama dan dukungan selama proses pengambilan sampel dan proses penelitian.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Kritik dan saran yang membangun sangat diperlukan demi pengembangan skripsi ini untuk ke depannya. Penulis berharap tulisan ini dapat memberi manfaat bagi masyarakat dan kemajuan ilmu pengetahuan serta pendidikan.

Yogyakarta, Februari 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	I
HALAMAN JUDUL BAGIAN DALAM	II
HALAMAN PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI	III
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI SKRIPSI	IV
LEMBAR PERNYATAAN	V
KATA PENGANTAR	VI
DAFTAR ISI	VII
DAFTAR TABEL	IX
DAFTAR GAMBAR	X
DAFTAR LAMPIRAN	XI
ABSTRAK	XII
ABSTRACT	XII
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Air Minum	5
2.2 Kualitas Mikrobiologi Air Minum	5
2.3 Coliform	6
2.4 Air Hujan	6
2.5 DNA <i>Barcoding</i>	8
BAB III METODOLOGI	9
3. 1 Waktu dan Tempat Penelitian	9
3. 2 Alat dan Bahan	9
1.2.1 Deteksi total coliform	9

1.2.2 Karakterisasi pada CCA.....	9
1.2.3 DNA <i>barcoding</i>	10
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Monitoring Kualitas Mikrobiologi Air Hujan.....	14
4.2 Identifikasi dan Karakterisasi Coliform.....	16
4.3 Identifikasi Coliform Melalui DNA <i>Barcode</i> dan Analisis Filogenetik.....	20
BAB V KESIMPULAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
DAFTAR LAMPIRAN	39

DAFTAR TABEL

Tabel 1.	Hasil uji coliform dan beberapa bakteri patogen lainnya.....	14
Tabel 2.	Hasil <i>streak</i> pada medium CCA.....	17
Tabel 3	Dugaan koloni pada medium CCA.....	18

©CUKDW

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Hasil <i>streak</i> koloni pada medium CCA	13
Gambar 2.	Pengecatan gram sampel A1, A3, B1	15
Gambar 3.	Foto elektroforesis hasil ampilifikasi terhadap 3 sampel air hujan dari dua titik lokasi (A dan B) dengan primer 16S rRNA 27F dan 1492R menghasilkan pita dengan ukuran 1400 bp	17
Gambar 4.	Pohon filogenetik sekuens A1, A3, B1 yang dibandingkan dengan 20 <i>hit list</i> <i>Klebsiella variicola</i> , <i>Burkholderia</i> spp, <i>Enterobacter</i> sp yang diperoleh dari <i>GenBank</i> dengan <i>outgroup Bacillus subtilis</i>	19

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil uji deteksi coliform dan parameter mikrobiologi pada lokasi A di Yogyakarta	11
Lampiran 2.	Hasil uji deteksi coliform dan parameter mikrobiologi pada lokasi B di Yogyakarta	11
Lampiran 3.	Hasil similaritas spesies terdekat berdasarkan data sekuens sampel A1 (air hujan dalam tanki penyimpanan di lokasi A) dengan <i>hit list</i> BLAST pada <i>database</i> NCBI	14
Lampiran 4.	Hasil similaritas spesies terdekat berdasarkan data sekuens sampel A3 (air hujan yang dikonsumsi di lokasi B) dengan <i>hit list</i> BLAST pada <i>database</i> NCBI	14
Lampiran 5.	Hasil similaritas spesies terdekat berdasarkan data sekuens Sampel B1 (air hujan dalam tanki penyimpanan di lokasi B) dengan <i>hit list</i> BLAST pada <i>database</i> NCBI	14
Lampiran 6.	Sekuens A1	54
Lampiran 7.	Sekuens A3	55
Lampiran 8.	Sekuens B1	56

ABSTRAK

Identifikasi Molekuler Coliform pada Air Hujan sebagai Air Minum

KURMIA CITRA TANDIPARE

Air hujan merupakan sumber daya alam berkelanjutan yang dapat dimanfaatkan untuk mengatasi kelangkaan air minum. Indonesia sebagai negara tropis dengan curah hujan yang tinggi, bagaimanapun, masih menghadapi masalah ketersediaan air bagi masyarakatnya. Pemanfaatan air hujan sebagai air minum diproses melalui sistem sederhana yang umumnya disebut sebagai Sistem Pemanenan Air Hujan (SPAH), yang pada prinsipnya menggunakan elektrolisis. Monitoring selama satu tahun terhadap kualitas mikrobiologi air hujan di dua lokasi berbeda pada kabupaten yang sama di Yogyakarta, Indonesia, menunjukkan adanya kontaminasi coliform dalam sampel yang diuji menggunakan metode konvensional. Bakteri patogen potensial seperti *Enterococcus* sp, *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Escherichia coli*, dan *Vibrio cholerae* tidak terdeteksi. Deteksi adanya kontaminasi kelompok coliform pada air hujan dilakukan dengan cara menumbuhkan sampel pada *Chromocult Coliform Agar* (CCA). Tiga koloni diambil secara acak dan dilanjutkan dengan identifikasi molekuler dengan menggunakan gen 16S rRNA sebagai penanda molekuler. Tiga spesies teridentifikasi sebagai *Klebsiella variicola*, *Burkholderia cenocepacia* dan *Enterobacter asburiae*. Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengetahui asal bakteri tersebut pada sampel serta patogenesitasnya. Peningkatan kualitas SPAH perlu dilakukan untuk menghilangkan kontaminan dalam air hujan sehingga menjamin keamanan konsumsi air hujan sebagai air minum.

Kata kunci: air hujan, coliform, SPAH, Yogyakarta, 16S rRNA

ABSTRACT

Molecular Identification of Coliform in Rain as Drinking Water

KURMIA CITRA TANDIPARE

Rainwater is a sustainable natural resource in overcoming the scarcity of drinking water. Indonesia as a tropical country with high rainfall, however, still facing problem with water supply for its people. Utilization of rainwater as drinking water is processed through a simple system which is generally referred to as Rainwater Harvesting (RWH), basically by electrolysis. One year monitoring of the microbiological quality of rainwater that passed through RWH in two locations at the same district in Yogyakarta, Indonesia, showed the presence of coliform contamination in the samples tested using conventional methods, although none of potential pathogenic bacteria were detected. None of these bacteria were detected, including *Enterococcus* sp, *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Escherichia coli*, and *Vibrio cholerae*, respectively. After being screened for the possible presence of non-coliform group from the coliform contaminated water, by means of growing the samples on Chromocult Coliform Agar (CCA), three colonies were randomly picked and continued with molecular identification by employing 16S rRNA as molecular marker. Three species were recognized based on the resulting sequences and identified as *Klebsiella variicola*, *Burkholderia cenocepacia* and *Enterobacter asburiae*, respectively. As some of these bacteria are pathogenic, further research need to be done to identify the origin of these bacteria at the samples, as well as to improve the RWH system to eliminate contaminants in rainwater so ensuring the safety of consuming rainwater as drinking water.

Keywords: coliform, rainwater, rainwater harvesting (RWH), Yogyakarta, 16S rRNA

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ketersediaan air bersih merupakan suatu hal utama yang harus terpenuhi oleh manusia. Penyediaan air bersih merupakan perhatian utama di banyak negara, termasuk di Indonesia karena air merupakan kebutuhan dasar dan sangat penting untuk kehidupan dan kesehatan umat manusia (Song *et al.*, 2009). Permasalahan ketersediaan air bersih telah menjadi isu global hingga saat ini. Tiga dari sepuluh orang (2.1 milyar penduduk dunia) tidak memiliki akses pelayanan air minum yang aman untuk dikonsumsi, sedangkan 844 juta orang masih kekurangan akses pemenuhan air minum yang bersih (WHO/UNICEF, 2017). Lebih dari 2 miliar penduduk dunia memiliki tingkat kebutuhan air minum yang tinggi dan sekitar 4 miliar penduduk mengalami kelangkaan air yang parah setidaknya selama satu bulan dalam setahun (WWAP, 2019).

Pesatnya pertumbuhan penduduk, kekeringan dan perubahan iklim, penggunaan air tanah yang berlebihan, meningkatnya konversi lahan atau daerah penyerapan menjadi area pemukiman ataupun perkantoran menjadi pemicu tingginya kebutuhan bahkan menyebabkan kelangkaan pada banyak wilayah (Zhang *et al.*, 2009). Pemenuhan air bersih dari air permukaan ataupun dari air tanah sangatlah terbatas jumlahnya. Konservasi sumber daya air dalam arti penghematan dan penggunaan kembali (*reuse*) menjadi hal yang sangat penting untuk mengatasi hal tersebut. Pengelolaan sumber daya air yang berkelanjutan didasarkan pada prinsip bahwa sumber air seharusnya digunakan sesuai dengan kuantitas yang dibutuhkan (Kim *et al.*, 2007).

Pemanfaatan air hujan sebagai salah satu alternatif sumber air sangat potensial untuk diterapkan di Indonesia mengingat Indonesia adalah negara tropis dengan curah hujan yang tinggi sehingga hal ini menjadi salah satu upaya pengelolaan sumber daya air yang berkelanjutan. Pemanenan air hujan (PAH) dengan

memanfaatkan atap bangunan umumnya merupakan alternatif dalam memperoleh sumber air bersih yang membutuhkan sedikit pengolahan sebelum digunakan untuk keperluan manusia (Zhang *et al.*, 2009).

Pemanenan air hujan dapat dilakukan dalam berbagai skala, yaitu skala individu, skala komunal hingga skala yang lebih luas (Nazharia, C., Maryati, S. 2011 dalam Nurdin *et al.*, 2019). Sekolah Air Hujan Banyu Bening yang berlokasi di Kabupaten Sleman, Yogyakarta merupakan komunitas pertama di Indonesia yang bergerak dibidang konservasi air terutama terkait penggunaan dan pengolahan air hujan menjadi air minum. Komunitas ini memanfaatkan air hujan sebagai air minum dengan membangun Sistem Pemanenan Air Hujan (SPAH) yang pada prinsipnya menggunakan elektrolisis. Kondisi ini menjadikan sumber air seperti pemanfaatan dan pengolahan air hujan perlu dipertimbangkan, sehingga dapat mengurangi penggunaan air tanah ataupun mengurangi biaya transaksi jual beli air minum yang cukup tinggi.

Air yang dikonsumsi oleh masyarakat harus memenuhi syarat kesehatan karena air merupakan media paling baik untuk berkembangnya mikroorganisme. Salah satu parameter mikrobiologi pada air minum yang perlu diperhatikan yaitu coliform. Total colifom merupakan bakteri indikator pada air minum. Total coliform yang terdeteksi menunjukkan adanya potensi kontaminasi terkait sistem distribusi air (Zhang *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil pengujian total coliform yang telah dilakukan secara berkala pada air hujan sebagai air minum menunjukkan hasil cemaran coliform masih terdeteksi pada sampel air hujan yang diperoleh dari SPAH di Sleman, Yogyakarta.

Metode konvensional yang digunakan untuk mendeteksi kontaminasi mikroorganisme sering memberikan hasil *false-positive* (FP) ataupun *false-negative* (FN) sehingga dianggap kurang efisien dan tentu mempengaruhi akurasi deteksi total coliform dan *Escherichia coli* yang sangat penting bagi keamanan dan kesehatan masyarakat (Zhang *et al.*, 2015). Deteksi secara molekuler telah disarankan sebagai

metode spesifik dan dapat diandalkan untuk mendeteksi coliform dalam air minum (Isfahani, 2015). Deteksi cemaran bakteri coliform pada air hujan secara molekuler melalui DNA *barcoding* dan analisis filogenetik diharapkan dapat memberi informasi yang lebih valid dan komprehensif terkait keamanan konsumsi air hujan.

1.2 Rumusan Masalah

Identifikasi coliform pada air hujan secara molekuler.

1.3 Tujuan Penelitian

Melakukan monitoring dan mengidentifikasi jenis coliform pada air hujan sebagai air minum di Yogyakarta.

1.4 Manfaat Penelitian

Mengetahui keamanan konsumsi air hujan sebagai air minum melalui deteksi jenis coliform secara molekuler.

BAB V

KESIMPULAN

Metode konvensional yang umumnya masih digunakan untuk mendeteksi tingkat cemaran coliform ataupun bakteri patogen lainnya dapat dilengkapi dengan metode molekuler. Deteksi dan identifikasi cemaran coliform secara molekuler memberikan hasil yang lebih spesifik, valid dan komprehensif sehingga hasil yang diperoleh dapat diinterpretasikan dengan lebih baik. Metode ini diterapkan sebagai upaya untuk mengetahui jenis coliform yang terdeteksi pada sampel air hujan yang dimanfaatkan sebagai air minum pada dua lokasi sampling di Yogyakarta. Hasil analisis filogenetik menunjukkan bahwa cemaran coliform pada sampel teridentifikasi sebagai *Klebsiella variicola*, *Burkholderia cenocepacia* dan *Enterobacter asburiae*. Penelitian lanjutan terkait asal bakteri patogen tersebut serta sifat patogenisitas cemaran bakteri pada air hujan perlu dilakukan untuk pengembangan Sistem Pemanfaatan Air Hujan (SPAH) serta menjamin keamanan konsumsi air hujan sebagai air minum.

Daftar Pustaka

- Abdulla, F.A., Al-Shareef, A.W. (2009). Roof rainwater harvesting systems for household water supply in Jordan. *Desalination* **243**(1-3), 195-207.
- Ahsan, A., Rahman, A., Shanableh, A., Nik Daud, N.N., Mohammed, T.A., Mabrouk, A.N.A. (2013). Life cycle cost analysis of a sustainable solar water distillation technique. *Desalina. Water Treat.* **51**(40-42), 7412-7419.
- Alim, M. A., Rahman, A., Tao, Z., Samali, B., Khan, M. M., Shirin, S. (2019). *Suitability of Roof Harvested Rainwater for Potential Potable Water Production: A Scoping Review. Journal of Cleaner Production*, **119226**. doi:10.1016/j.jclepro.2019.119226
- Balajee, S.A., Borman, A.M., Brandt, M.E., Cano, J., Estrella, M.C., Dannaoui, E., Guarro, J., Haase, G., Kibbler, C.C., Meyer, W., O'Donnell, K., Petti, C.A., Tudela, J.L.R., Sutton, D., Velegraki, A., Wickes, B.L. (2009). Sequence-based identification of *Aspergillus*, *Fusarium*, and *Mucorales* species in the clinical mycology laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* **47**(4): 877-884.
- Bartram, J., Ballance, R., World Health OrganizationUnited Nations Environment Programme. (1996). Water quality monitoring : a practical guide to the design and implementation of freshwater quality studies and monitoring programs. London : E & FN Spon. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41851>
- Bi C, Rice J.D., Preston J.F. (2009). Complete fermentation of xylose and methylglucuronoxyllose derived from methylglucuronoxylan by *Enterobacter asburiae* strain JDR-1. *Appl Environ Microbiol*; **75** (2):395-404.
- Cabral J. P. (2010). Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **7** (10), 3657–3703. <https://doi.org/10.3390/ijerph7103657>
- Cha S.W., Heo J.N., Park C.K.(2013). *Enterobacter asburiae* Pneumonia with Cavitation. *J Korean Soc Radiol*; **68**(3):217-9.
- Chubaka, E., Ross, K., Edwards, J. (2017). Rainwater for drinking water: A study of household attitudes. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*. **216**. 299-311. 10.2495/WS170291.
- Clifford RJ, Milillo M, Prestwood J, Quintero R, Zurawski D.V., Kwak Y.I. (2012). Detection of bacterial 16S rRNA and identification of four clinically important bacteria by real-time PCR. *PLoS One*; **7**:e48558.
- Coenye, T. & Vandamme, P. (2003). Diversity and significance of *Burkholderia* species occupying diverse ecological niches. *Environ Microbiol* **5**, 719–729.
- Coenye, T., Vandamme, P., Govan, J. R. , LiPuma, J. J. (2001). Taxonomy and identification of the *Burkholderia cepacia* complex. *J Clin Microbiol* **39**, 3427–3436.
- Coombes, P.J., Argue, J.R., Kuczera, G. (2000). Figtree Place: A case study in water sensitive urban development (WSUD). *Urban Water* **1**(4), 335-343.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2010). Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/MENKES/PER/IV/2010 Tentang Persyaratan Kualitas Air Minum. Jakarta: Depkes RI.
- Depoorter, E., Bull, M. J., Peeters, C., Coenye, T., Vandamme, P., Mahenthiralingam, E. (2016). *Burkholderia*: an update on taxonomy and biotechnological potential as antibiotic producers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **100**, 5215–5229. doi: 10.1007/s00253-016-7520-x
- Ernawati NML. (2008). *Karakterisasi fenotipik dan molekuler bakteri patogen serta epidemi penyakit hawar daun bakteri pada bibit tanaman Acacia crassicarpa* [thesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz, S. (1993). *Analisis Mikroorganisme Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Gavini, F., Leclerc, H., Mossel, D.A.A., 1985. Enterobacteriaceae of the “coliform group” in drinking water: identification and worldwide distribution. *Syst. Appl. Microbiol.* **6**, 312–318.
- Gonzalez, R., Tamagnini, L., Olmos, P., Sousa, G. (2003). Evaluation of a chromogenic medium for total coliforms and *Escherichia coli* determination in ready-to-eat foods. *Food Microbiology*. **20**, 601-604. 10.1016/S0740-0020(02)00178-8.
- Guo, Y. (2018). Complete Genomic Analysis of a Kingdom-Crossing *Klebsiella variicola* Isolate. *Front Microbiol.* **9**, 2428
- Hayward, C., Ross, K. E., Brown, M. H., Whiley, H. (2020). Water as a Source of Antimicrobial Resistance and Healthcare-Associated Infections. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, **9**(8), 667. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080667>
- Herrmann, T., Schmida, U. (2000). Rainwater utilisation in Germany: efficiency, dimensioning, hydraulic and environmental aspects. *Urban Water* **1**(4), 307-316.
- Hidayat, T., Adi, P. (2008). Kajian Filogenetika Molekuler dan Perannya dalam Menyediakan Informasi Dasar untuk Meningkatkan Kualitas Sumber Genetik Anggrek. *Jurnal AgroBiogen* **4**(1): 35-40
- Hofman-Caris, R., Bertelkamp, C., de Waal, L., van der Brand, T., Hofman, J., van der Aa, R., van der Hoek, J.P. (2019). Rainwater Harvesting for Drinking Water Production: A Sustainable and Cost-Effective Solution in The Netherlands?. *Water*, **11**, 511; doi:10.3390/w11030511
- Hoque, B.A., Hoque, M.M., Ahmed, T., Islam, S., Azad, A.K., Ali, N., Hossain, M., Hossain, M.S. (2004). Demand-based water options for arsenic mitigation: An experience from rural Bangladesh. *Public Health* **118**(1), 70-77.
- Hursany, D. (2010). Pengadaan Air Bersih di Pulau Kodingareng, Kec. Ujung Tanah, Kota Makassar. Universitas Hasanuddin, Makassar
- Isfahani BN, Fazeli H, Babaie Z, Poursina F, Moghim S, Rouzbahani M. (2015). Evaluation of Polymerase Chain Reaction for Detecting Coliform Bacteria in Drinking Water Sources. *Adv Biomed Res* 2017; **6**:130.

- Julisaniah N.I., Sulistyowati L., Sugiharto A.N. (2008). Analisis kekerabatan mentimun (*Cucumis sativus* L.) menggunakan metode RAPD-PCR dan isozim. *Biodiversitas* 9(2): 99-102.
- Kämpfer P., Nienhüser A., Packroff G., Wernicke F., Mehling A., Nixdorf K. (2008). Molecular identification of coliform bacteria isolated from drinking water reservoirs with traditional methods and the Colilert-18 system. *Int J Hyg Environ Health*;211:374-84.
- Kaushik R, Balasubramanian R, Dunstan H.(2014). Microbial Quality and Phylogenetic Diversity of Fresh Rainwater and Tropical Freshwater Reservoir. *PLoS ONE* 9(6): e100737. doi:10.1371/journal.pone.0100737
- Kim, R, Sangho L., Jinwoo J., Jung-Hun L., Kim, Y. (2007). Reuse greywater and rainwater using fiber filter media and metal membrane. *Desalination* 202:326-332.
- Kumar, D., ShrutiKirti, Kumari, K. (2013). *Klebsilla*: In Drinking Water. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention ISSN*. www.ijpsi.org Volume 2 Issue 12.December 2013.pp.38-42
- Lange B., Strathmann M., Oßmer R. (2013). Performance validation of chromogenic coliform agar for the enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria. *Lett Appl Microbiol.* Dec;57(6):547-53. doi: 10.1111/lam.12147. Epub 2013 Sep 12. PMID: 23952651.
- Mahenthiralingam, E., Urban, T. A., Goldberg, J. B. (2005). The multivarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. *Nat Rev Microbiol* 3, 144–156.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. (2019). *Brock Biology of Microorganisms*. 16th Ed. Prentice Hall International, Inc. New Jersey. 991pp.
- Mariana, C., Hardienata, H., Mayditia, H., Azis, M., Yulianita, I. (2006). Perancangan Sistem Pengolahan Air Hujan Dengan Menggunakan Teknologi Membran Dan Lampu Ultraviolet Serta Penerapannya Dalam Kehidupan Sehari-hari. Departemen Fisika. Institut Pertanian Bogor.
- Martinez-Romero, E., Rodriguez-Medina, N., Beltran-Rojel, M., Toribio-Jimenez, J., Garza-Ramos, U. (2018). *Klebsiella variicola* and *Klebsiella quasipneumoniae* with capacity to adapt to clinical and plant settings. *Salud Publica Mex.* 60, 29–40.
- Muni, S., Kumar, A., Shahi, S., Pankaj, D., Sen, A., Salila, S. (2017). Diarrhoea with special reference to enteropathogenic *E. coli* in children below five years at a tertiary care centre. *International Journal of Contemporary Medical Research* 2017;4 (9):1934-1937.
- Naser, A.M., Rahman, M., Unicomb, L. (2020). Associations of drinking rainwater with macro-mineral intake and cardiometabolic health: a pooled cohort analysis in Bangladesh, 2016–2019. *npj Clean Water* 3, 20. <https://doi.org/10.1038/s41545-020-0067-5>
- Nazharia,C. dan Maryati,S. (2011). Perencanaan Sistem Pengolahan Air Hujan Dengan Menggunakan Teknologi Membran dan Lampu Ultraviolet Serta

- Penerapannya Dalam Kehidupan Sehari-hari. Jurnal Perencanaan Wilayah dan Kota B SAPPK V2N1. Institut Pertanian Bogor.
- Nurdin, A., Lembang, D., Kasmawati. (2019). Model Pemanenan dan Pengolahan Air Hujan menjadi Air Minum. *Jurnal Teknik Hidro* Vol. 12 no.2
- Octavia, S. & Lan, R. (2014). The family *Enterobacteriace*. *The Prokaryotes*, 225-286. doi:10.1007_978-3-642-38922-1_167.
- Pangestika, Y., Budiharjo, A., Kusumaningrum, H. P. (2015). Analisis Filogenetik *Curcuma Zedoaria* (Temu Putih) Berdasarkan Gen Internal Transcribed Spacer (ITS). *Jurnal Akademika Biologi*, 4(4), 8-13.
- Parke, J. L. & Gurian-Sherman, D. (2001). Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implications for risk assessment of biological control strains. *Annu Rev Phytopathol* **39**, 225–258.
- Petti, P. A. (2007). Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. *Clin. Infect Disc.* **44**(8):1108-1114.
- Pitout, J.D., Moland, E.S., Sanders, C.C. (1997). Beta-lactamases and detection of beta-lactam resistance in *Enterobacter* spp. *Antimicrob Agents Chemother*; **41**(1):35-9.
- Riera, N., Handique, U., Zhang, Y, Dewdney, M.M., Wang,N. (2017) .Characterization of Antimicrobial-Producing Beneficial Bacteria Isolated from Huanglongbing Escape Citrus Trees. *Front. Microbiol.* **8**:2415.doi: 10.3389/fmicb.2017.02415
- Rodrigues, C., Passet, V., Rakotondrasoa, A., Brisse, S. (2018). Identifcation of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella quasipneumoniae*, *Klebsiella variicola* and Related Phylogroups by MALDI-TOF Mass Spectrometry. *Frontiers in Microbiology* **9**, 1–7.
- Rodriguez-Medina, N., Barrios-Camacho, H., Duran-Bedolla, J. & Garza-Ramos, U. (2019). *Klebsiella variicola*: an emerging pathogen in humans. *Emerging Microbes and Infectious*. **8**, 973-988
- Rosenblueth, M., Martinez, L., Silva, J. & Martinez-Romero, E. (2004). *Klebsiella variicola*, a novel species with clinical and plant-associated isolates. *Syst. Appl. Microbiol.* **27**, 27–35
- Russo, T. A. Olson, R., Fang, C.T., Stoesser, N., Miller, M., MacDonald, U., Hutson., Barker, J. H., La Hoz, R.M., Johnson, J.R. (2018). Identifcation of Biomarkers for Diferentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K. pneumoniae*. *J. Clin. Microbiol.* **56**(9). <https://doi.org/10.1128/JCM.00776-18>
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert., V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., Chen, W., Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc Natl Acad Sci USA* **109**. 16:6241-6246.
- Soltan-Dallal, M. (2001). Diarrhea caused by Enteropathogenic bacteria in children. *Archives of Iranian Medicine* **4**, No 44.201-203.

- Song, J., Mooyoung, H., Tschungil, K., Jee-eun, S. (2009). Rainwater harvesting as a sustainable water supply option in Banda Aceh. *Desalination* **248**: 233-240.
- Stevens, M., Ashbolt, N., Cunliffe, D., (2003). Review of Coliforms as Microbial Indicators of Drinking Water Quality. National Health and Medical Research Council, Canberra, Australia. /<http://www.health.gov.au>.
- Susianah, T & Masduqi, A. (2011). *Air Hujan sebagai Alternatif Pemenuhan Kebutuhan Air Minum di Kecamatan Ranuyoso Kabupaten Lumajang*. Teknik Lingkungan. Institut Teknologi Surabaya.
- Tharannum, S., Sunitha, S., Nithya, J., Chandini, M., Vanitha, J., Manjula, T. (2009). Molecular confirmation of the presence of coliforms in drinking water using polymerase chain reaction. *Kathmandu Univ J Sci Eng Technol*; **5**:130-6.
- Torbeck, L., Raccasi, D., Guilfoyle, D.E., Friedman, R.L., Hussong, D. (2011). *Burkholderia cepacia*: this decision is overdue. *PDA J Pharm Sci Technol* **65**:535–543
- U.S. Environmental Protection Agency. (1999). National Primary and Secondary Drinking Water Regulations: Analytical Methods for Chemical and Microbiological Contaminants and Revisions to Library Certification Requirement, Final Rule. 40 CFR Parts 141 and 143. Fed. Reg. 64 (230)
- Vandamme, P., Holmes, B., Vancanneyt, M., Coenye, T., Hoste, B., Coopman, R., Revets, H., Lauwers, S., Gillis, M. (1997). Occurrence of multiple genomovars of *Burkholderia cepacia* in cystic fibrosis patients and proposal of *Burkholderia multivorans* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* **47**, 1188–1200.
- Waskom, R. & Kallenberger, J. (2014). Graywater Reuse and Rainwater Harvesting. Colorado Water Institute Fact Sheet No.6.702 Revised 12/14. Colorado State University.
- Wen, X., Chen, F., Lin, Y., Zhu, H., Yuan, F., Kuang, D., Jia, Z., Yuan, Z. (2020). Microbial Indicators and Their Use for Monitoring Drinking Water Quality. *Sustainability*, **12**, 2249; doi:10.3390/su12062249
- WHO/UNICEF (World Health Organization/United Nations Children's Fund). (2017). Progress on Drinking Water, Sanitation and Hygiene: 2017 Update and SDG Baselines. Geneva, WHO/UNICEF. <https://washdata.org/sites/default/files/documents/reports/2018-01/JMP-2017-report-final.pdf>
- World Health Organization. (2008). Guidelines for Drinking-water Quality, Incorporating 1st and 2nd Addenda, Volume 1, Recommendations, 3rd ed.; WHO: Geneva, Switzerland.
- World Health Organization. (2017). Guidelines for Drinking-Water Quality: Fourth Edition Incorporating the First Addendum. Geneva: World Health Organization. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK442376/> [diakses pada 23 Januari 2020]

WWAP (UNESCO World Water Assessment Programme). (2019). The United Nations World Water Development Report 2019: Leaving No One Behind. Paris, UNESCO.

<https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000367306/PDF/367306eng.pdf.multi>

Yang, Z., Rannala, B. (2012). Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature reviews genetics*. Vol. **13**. P. 303-314.

Zhang, Y., Hong, P.Y., LeChevallier, M.W., Liu, W.T. (2015). Phenotypic and phylogenetic identification of coliform bacteria obtained using 12 coliform methods approved by the U.S. Environmental Protection Agency. *Appl Environ Microbiol* **81**:6012–6023. doi:10.1128/AEM.01510-15.

Zhang, Y., Donghui, C., Liang, C., Stephanie, A. (2009). Potential for rainwater use in high-rise buildings in Australia cities. *Journal of Environmental Management* **91**:222-226.