

Pengaruh Madu pada Aktivitas Pertumbuhan Bakteri Saluran Pencernaan Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Perak Nitrat

(EFFECT OF HONEY ON GASTROINTESTINAL BACTERIA GROWTH ACTIVITY IN MICE (*MUS MUSCULUS*) THAT INDUCED BY SILVER NITRATE)

Gegana Wimaldy Airlangga¹,
Sruti Listra Adrenalin², Indah Amalia Amri²

¹Laboratorium Biokimia Veteriner,
²Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner,
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya,
Puncak Dieng Eksklusif, Kalisongo, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang, Indonesia, 65151;
Telp/Fax: (0341) 5029152
email: geganaairlangga@ub.ac.id

ABSTRAK

Madu digunakan sebagai makanan dan terapi herbal bagi manusia. Madu memiliki beberapa kandungan gula dan salah satunya yaitu oligosakarida. Aktivitas oligosakarida dari madu dapat memengaruhi bakteri saluran pencernaan seperti *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas madu pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi perak nitrat. Penelitian terdiri dari empat kelompok perlakuan yang antara lain kontrol negatif, perlakuan madu, perlakuan perak nitrat, dan perlakuan madu dan perak nitrat. Dosis madu yang diberikan yaitu 0.08 mL/20 gram dan perak nitrat yang diberikan dengan dosis 400 µg/mL. Pemeriksaan bakteri saluran cerna menggunakan metode konvensional dengan media selektif dan diferensial yaitu *MacConkay Agar* dan *Eosin Methylen Blue Agar*. Hasil dari penelitian ini adalah interpretasi dari perubahan media *MacConkay Agar* dan *Eosin Methylen Blue Agar*. Pemberian madu dan perak nitrat menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan antara *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*.

Kata-kata Kunci: *Eosin Methylen Blue Agar*; *Gut Microbiome*; *MacConkay Agar*; Madu; Perak nitrat

ABSTRACT

Honey is used as food and herbal therapy for humans. Honey contains several sugar and one of the is oligosaccharides. Oligosaccharides activity of honey can affect the gastrointestinal bacteria such as *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, and *Proteus*. The purpose of this study was to determine the activity of honey in mice (*Mus musculus*) induced by silver nitrate. The study consisted of four treatment groups which included negative control, honey treatment, silver nitrate treatment and honey and silver nitrate treatment. The dose of honey given was 0.08 mL/20 grams and silver nitrate dose given was 400 µg/mL. Gastrointestinal examination using conventional methods with media and differential selection, namely *MacConkay Agar* and *Eosin Methylene Blue Agar*. The result of this research is the interpretation of changes in *MacConkay Agar* and *Eosin Methylene Blue Agar* media. The treatments of honey and silver nitrate showed differences in bacteria growth among *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, and *Proteus*.

Keywords: *Eosin Methylene Blue Agar*; *Gut Microbiome*; *MacConkay Agar*; Honey; Silver nitrate

PENDAHULUAN

Pertumbuhan industri yang semakin pesat membawa perubahan yang signifikan terhadap lingkungan. Berbagai pengelolaan logam digunakan untuk membuat suatu produk komersial. Salah satu logam yang digunakan untuk industri komersial yaitu perak. Perak digunakan sebagai pelapis, penyepuhan, dan pembilasan suatu barang, tetapi penggunaan perak yang berlebih dapat menyebabkan pencemaran pada air. Pencemaran perak pada lingkungan air dapat mengakibatkan keracunan pada makhluk hidup. Menurut Sekarwati (2014), pencemaran air oleh limbah perak hasil kerajinan di Kota Gedhe Yogyakarta menyebabkan beberapa efek samping pada manusia seperti kerusakan ginjal maupun hati.

Perak memiliki karakteristik berwarna putih dalam bentuk biji dan bersifat stabil di udara maupun air. Perak di lingkungan digolongkan menjadi dua, yaitu perak yang tidak larut dalam air seperti golongan logam perak serta perak yang larut dalam air yaitu golongan garam perak. Perak nitrat merupakan salah satu garam perak yang larut dalam air (Howe dan Dobson, 2002). Penelitian yang dilakukan Amri *et al.* (2020) menunjukkan perak nitrat bersifat toksik yang mengakibatkan meningkatnya nilai *Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamic Pyruvate Transaminase* (SGPT) pada mencit pada dosis 400 µg/mL.

Perak nitrat menyebabkan kerusakan di dalam sel seperti kenaikan *reactive oxygen species* (ROS) yang merusak bagian membran plasma sel terutama pada lapisan fosfolipid, sehingga mengakibatkan sel mengalami beberapa perubahan patologi seperti degenerasi serta nekrosis. Namun dalam kasus lain, perak nitrat bisa direduksi oleh beberapa bakteri. Perak nitrat diubah dalam bentuk kecil atau nanopartikel perak yang bisa digunakan sebagai anti bakteri (Figuroa *et al.*, 2018). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Gurunathan *et al.* (2009), bakteri *Escherichia coli* dapat dimanfaatkan untuk pembuatan nanopartikel perak. *Escherichia coli* mampu melakukan biosintesis nanopartikel perak secara ekstra seluler dengan dibuktikan adanya perubahan warna senyawa perak nitrat pada media pertumbuhan bakteri dari kuning menjadi kecokelatan.

Madu digunakan sebagai makanan karena memiliki beberapa kandungan gula. Gula yang terkandung pada madu terdiri atas monosakarida, disakarida, trisakarida, dan oligosakarida. Oligosakarida merupakan gula yang tidak mudah dicerna dan berpotensi sebagai kompetitif ligand terhadap bakteri patogen di saluran pencernaan (Jahanian dan Ashnagar, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Sangkuanun *et al.* (2020) menunjukkan bahwa oligosakarida mempunyai peranan lain seperti meningkatkan pertumbuhan bakteri *Lactobacillus sp*, meningkatkan antioksidan endogen *superoxide dismutase* (SOD) serta

menurunkan peroksidase lipid dan stres oksidatif. Penelitian lain juga dilakukan oleh Sakena *et al.* (2020), bahwasanya oligosakarida pada rumput laut merah mampu menurunkan jumlah bakteri patogen di saluran pencernaan mencit. Penggunaan madu yang sangat meluas dikalangan masyarakat serta berkembang pesatnya bioteknologi nanopartikel perak maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan tujuan melihat keterkaitan penggunaan madu sebagai inhibitor bakteri patogen di dalam saluran pencernaan serta perak nitrat yang dapat diubah menjadi nanopartikel perak sebagai antibakteri di dalam saluran pencernaan.

METODE PENELITIAN

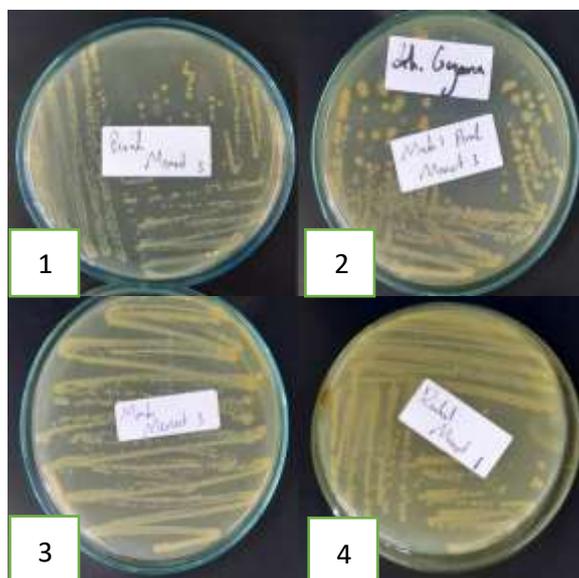
Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang telah mendapatkan laik etik oleh Komisi Etik Penelitian (*Animal Care and Use Committee*) Universitas Brawijaya dengan No. 086-KEP-UB-2020. Hewan coba diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang dan dilakukan adaptasi selama tujuh hari di Laboratorium Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya, Malang. Madu yang digunakan pada penelitian ini yaitu madu kelengkeng (Nectar Story Pure Honey®) yang dilarutkan dengan aquadest steril. Dosis madu yang diberikan pada hewan coba sebesar 0.08 mL/20 g (Dewi, 2010). Perak nitrat (No. Katalog 1.01512.0025; Merck KGaA Darmstadt, Jerman) yang diberikan pada hewan coba yaitu 400µg/mL yang dilarutkan dengan aquadest steril.

Perlakuan hewan coba dilaksanakan selama 14 hari atau dimulai pada hari ke-8 pasca adaptasi di kandang hewan coba Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya. Hewan coba dibagi menjadi empat kelompok perlakuan yang terdiri atas kelompok perlakuan kontrol negatif, kelompok perlakuan madu, kelompok perlakuan perak nitrat, serta kelompok perlakuan madu dan perak nitrat (madu diberikan terlebih dahulu kemudian dalam rentang 1–2 jam diberikan perak nitrat) dengan setiap kelompok perlakuan memiliki jumlah ulangan minimal lima ekor mencit. Hewan coba dikorbankan nyawanya (*sacrificed*) dengan cara *euthanasia* hewan coba menggunakan metode *cervical dislocation* dan dilanjutkan proses nekropsi guna pengambilan sampel berupa organ saluran pencernaan yang ditempatkan pada media pertumbuhan bakteri *nutrient broth*. Proses *euthanasia* dan nekropsi dilakukan pada hari ke-22 di Laboratorium Patologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Sampel yang diperoleh dilanjutkan pada proses isolasi dan identifikasi dengan beberapa media pertumbuhan bakteri di Laboratorium Mikrobiologi dan Imunologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya. Isolasi sampel diambil dari media

Nutrient broth kemudian diisolasi pada media *Nutrient agar*. Hasil isolasi bakteri dilanjutkan proses identifikasi bakteri pada media pertumbuhan bakteri *MacConkey Agar* dan *Eosin Methylen Blue Agar*. Analisis data berupa deskripsi dari hasil interpretasi media *MacConkey Agar* dan *Eosin Methylen Blue Agar*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hewan coba mencit yang sudah mendapatkan perlakuan dalam empat kelompok perlakuan antara lain kelompok perlakuan kontrol negatif, kelompok perlakuan madu, kelompok perlakuan perak, dan kelompok perlakuan madu dan perak, dilanjutkan ke proses nekropsis hewan coba. Proses nekropsis dilakukan untuk mendapatkan sampel organ saluran pencernaan mencit yang ditempatkan pada media *nutrient Bboth*. Pada *nutrient broth* diharapkan bakteri tumbuh dengan baik sebelum dilakukan proses isolasi pada media *nutrient agar*. Hasil isolasi sampel pada media *nutrient agar* sebagai pertumbuhan bakteri, ditunjukkan adanya perubahan media seperti yang tersaji pada Gambar 1.



Gambar 1. Isolasi bakteri dari sampel saluran pencernaan pada media *nutrient agar*. (1) pertumbuhan bakteri pada media *nutrient agar* kelompok perlakuan perak nitrat; (2) pertumbuhan bakteri pada media *nutrient agar* kelompok perlakuan madu dan perak nitrat; (3) pertumbuhan bakteri pada media *nutrient agar* kelompok perlakuan madu; (4) pertumbuhan bakteri pada media *nutrient agar* kelompok perlakuan kontrol

Semua kelompok perlakuan menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri di media *nutrient agar*. Hasil isolasi bakteri pada *nutrient agar* dilanjutkan dengan pewarnaan Gram bakteri untuk mengetahui morfologi serta sifat Gram bakteri. Pewarnaan Gram bakteri dilakukan untuk mengetahui bentuk dasar bakteri dan penyusun dasar dinding sel bakteri.

Bakteri Gram positif dindingnya tersusun dari peptidoglikan atau Gram negatif yang tersusun sebagian besar oleh lipopolisakarida. Hasil pemeriksaan pewarnaan Gram bakteri pada penelitian ini yaitu bakteri berwarna merah dan berbentuk *bacil*. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri yang diisolasi dari saluran pencernaan mencit dari semua kelompok perlakuan yaitu bakteri *bacil* Gram negatif atau bakteri famili *enterobacteriaceae*.

Hasil pemeriksaan pewarnaan Gram dilanjutkan dengan identifikasi bakteri menggunakan media pertumbuhan bakteri selektif dan diferensial. Proses pemilihan media selektif dan diferensial berdasarkan pada hasil pemeriksaan pewarnaan Gram. Media pertumbuhan bakteri selektif dan diferensial memiliki beberapa komposisi dalam menunjang identifikasi bakteri. Komposisi utama yang terdapat pada media pertumbuhan bakteri selektif dan diferensial antara lain nutrisi, bahan selektif dan diferensial, serta indikator pH. Komponen nutrisi berfungsi untuk menunjang bakteri dalam melakukan proses pertumbuhan dengan cara pembelahan serta proses metabolisme. Komponen bahan selektif dan diferensial berfungsi untuk mengeliminasi atau membedakan bakteri yang terdapat pada sampel. Komponen indikator pH berfungsi dalam menentukan jenis bakteri yang terdapat pada sampel (Jorgensen *et al.*, 2015). Penelitian ini menggunakan dua media pertumbuhan bakteri selektif dan diferensial yaitu *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar*. Media pertumbuhan bakteri *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* yang digunakan berjumlah masing-masing 20 yang terbagi menjadi empat kelompok perlakuan dengan ulangan sebanyak lima. Hasil dari pengamatan perubahan warna pada media *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* tersaji pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Perubahan warna pada media *eosin methylen blue agar*

Ulangan	Kelompok Perlakuan			
	Kontrol Negatif	Madu	Perak Nitrat	Madu dan Perak Nitrat
1	Hijau metalik	Hijau metalik	<i>Colorless</i>	<i>Colorless</i>
2	Hijau metalik	Hijau metalik	Hijau metalik	<i>Colorless</i>
3	<i>Colorless</i>	Hijau metalik	<i>Colorless</i>	Hijau metalik
4	Hijau metalik	<i>Colorless</i>	Hijau metalik	Hijau metalik
5	Hijau metalik	Hijau metalik	<i>Colorless</i>	Hijau metalik

Tabel 2. Perubahan warna pada media *macconkay* Agar

Ulangan	Kelompok Perlakuan			
	Kontrol Negatif	Madu	Perak Nitrat	Madu dan Perak Nitrat
1	Merah muda	Merah muda	Merah muda	<i>Colorless</i>
2	Merah muda	Merah muda	Merah muda	Merah muda
3	Merah muda	<i>Colorless</i>	<i>Colorless</i>	Merah muda
4	<i>Colorless</i>	Merah muda	<i>Colorless</i>	<i>Colorless</i>
5	Merah muda	Merah muda	<i>Colorless</i>	Merah muda

Hasil pemeriksaan bakteri pada media pertumbuhan bakteri *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* pada kelompok perlakuan menunjukkan adanya perubahan warna. Perubahan warna pada media pertumbuhan bakteri menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan jenis bakteri yang terdapat pada sampel. Media pertumbuhan bakteri *Eosin Methylen Blue Agar* menunjukkan adanya dua perubahan warna yaitu hijau metalik dan *colorless* dan pada media pertumbuhan bakteri *MacConkay Agar* menunjukkan adanya dua perubahan warna yaitu merah muda dan *colorless*. Menurut Jorgensen *et al.* (2015), perubahan warna hijau metalik pada media pertumbuhan bakteri *Eosin Methylen Blue Agar* mengarah pada bakteri *E.coli* dan perubahan warna *colorless* mengarah pada bakteri *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*, sedangkan perubahan warna merah muda pada media pertumbuhan bakteri *MacConkay Agar* mengarah pada bakteri *E.coli* dan *Klebsiella* serta perubahan warna *colorless* mengarah pada *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*.

Komposisi utama media pertumbuhan bakteri *Eosin Methylen Blue Agar* untuk identifikasi bakteri yaitu terdiri dari laktosa sebagai sumber karbohidrat serta eosin dan *methylene blue* sebagai indikator pH dan menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif. Komposisi utama media pertumbuhan bakteri *MacConkay Agar* yaitu laktosa sebagai sumber karbohidrat serta garam empedu (*bile salt*) yang berfungsi sebagai inhibitor bakteri Gram positif dan *neutral red* sebagai indikator pH. Metabolisme laktosa pada sampel bakteri dapat menunjukkan bahwa golongan bakteri yang memfermentasi laktosa berwarna hijau metalik pada media pertumbuhan bakteri *Eosin Methylen Blue Agar* dan berwarna merah muda pada media pertumbuhan bakteri *MacConkay Agar* serta bakteri yang tidak memfermentasi laktosa berwarna *colorless* (Jorgensen *et al.*, 2015). Pada penelitian ini hasil identifikasi bakteri pada media *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* menunjukkan adanya beberapa kesamaan pada masing-masing perlakuan.

Interpretasi kelompok perlakuan kontrol negatif pada media *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* mengarah pada bakteri *E.coli*. *E.coli* merupakan salah satu bakteri yang terdapat pada saluran pencernaan. Christofi *et al.* (2019) pada penelitiannya menemukan *E.coli* pada tinja mencit dengan metode sekuensing 16s pada kelompok perlakuan kontrol negatif. Keberadaan *E.coli* sebagai flora normal tidak mempunyai fungsi yang signifikan sebagai bakteri memfermentasi karbohidrat seperti bakteri *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus*. *Bifidobacterium* dan *Lactobacillus* merupakan bakteri yang memfermentasi laktosa yang utama pada saluran cerna dan menghasilkan asam lemak rantai pendek, namun pada penelitian Schlee *et al.* (2007), *E.coli Nissle 1917* menunjukkan induksi peningkatan imunitas inang/host terhadap patogen serta penelitian Ukena *et al.* (2007) mengungkapkan *E.coli Nissle 1917* mampu memperkuat pertahanan mukosa saluran cerna.

Interpretasi kelompok perlakuan madu pada media *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* mengarah pada bakteri *E.coli* dan satu ulangan pada masing-masing media mengarah pada bakteri *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*. Menurut penelitian Jahanian dan Ashnagar (2015), menunjukkan pemberian *mannan-oligosaccharides* menurunkan total bakteri *Salmonella* tetapi tidak menurunkan total bakteri *E.coli*. Oligosakarida yang terdapat pada madu mampu menghambat beberapa bakteri patogen dalam melakukan perlekatan pada saluran pencernaan. Secara signifikan reseptor pada saluran pencernaan yang menerima fimbriae bakteri ditutup oleh oligosakarida (Monteagudo-Mera *et al.*, 2019). Namun penelitian yang dilakukan oleh Naughton *et al.* (2001), menyatakan bahwa pemberian *fructose-oligosaccharides* dapat menurunkan jumlah bakteri *E.coli* pada saluran pencernaan babi tetapi tidak menurunkan jumlah bakteri *Salmonella*. Hal ini disebabkan adanya pembentukan asam laktat dari *fructose-oligosaccharides* sehingga menurunkan pH di dalam saluran pencernaan.

Interpretasi kelompok perlakuan perak nitrat pada media *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* mengarah pada bakteri *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus* dengan dua ulangan mengarah pada bakteri *E.coli*. Perak nitrat direduksi oleh bakteri di saluran pencernaan menjadi nanopartikel perak. Ada kemungkinan bahwa nanopartikel perak yang dihasilkan menghambat pertumbuhan beberapa bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh González *et al.* (2018) menunjukkan aktivitas anti bakteri pada nanopartikel perak terhadap bakteri *E.coli* secara *in vitro*. Nanopartikel perak menurunkan integritas membran sel bakteri sehingga menyebabkan ketidakseimbangan antara intraseluler dengan ekstraseluler.

Interpretasi kelompok perlakuan madu dan perak nitrat pada media *Eosin Methylen Blue Agar* dan *MacConkay Agar* sebagian besar mengarah pada *E.coli* dengan dua ulangan

mengarah pada *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*. Hambatan perlekatan bakteri pada reseptor saluran pencernaan menghambat pertumbuhan beberapa bakteri *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*, tetapi nanopartikel hasil reduksi bakteri terhadap perak nitrat juga menghambat pertumbuhan beberapa bakteri seperti *E.coli*. Hambatan pertumbuhan bakteri *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus* terlihat pada tiga media, sedangkan hambatan pertumbuhan bakteri *E.coli* hanya pada dua media. Menurut penelitian Gurunathan *et al.* (2009), sintesis nanopartikel oleh bakteri memerlukan beberapa kondisi yang mendukung untuk menghasilkan nanopartikel yang maksimal sebagai anti bakteri.

SIMPULAN

Aktivitas madu dan perak nitrat pada bakteri saluran pencernaan mencit menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan antara *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella*, dan *Proteus*. Pemberian madu dapat memproteksi saluran pencernaan dari perlekatan bakteri patogen dan perak nitrat yang tereduksi oleh bakteri dapat digunakan sebagai anti bakteri.

SARAN

Penelitian lebih lanjut diperlukan dalam pemeriksaan spesies bakteri fermentasi laktosa yang utama pada saluran pencernaan yaitu *Lactobacillus sp* dan *Bifidobacterium* menggunakan metode konvensional maupun modern serta perbedaan proses hambatan nanopartikel perak terhadap pertumbuhan bakteri *E.coli*, *Salmonella*, *Shigella* dan *Proteus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Brawijaya Malang yang telah mendanai penelitian ini melalui hibah DPPSPP tahun 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Amri IA, Hendrasmara MF, Qosimah D, Aeka A, Rickyawan N, Purwatiningsih W, Dameanti FNAEP. 2020. Toksisitas Larutan Perak Nitrat (AgNO_3) pada Mencit Balb-c Berdasarkan Kadar SGPT dan SGOT. *Jurnal Medik Veteriner* 3(2): 251-257.
- Christofi T, Panayidou S, Dieronitou I, Michael C, Apidianakis Y. 2019. Metabolic output defines *Escherichia coli* as a health-promoting microbe against intestinal *Pseudomonas aeruginosa*. *Scientific reports* 9(1): 1-13.
- Dewi MR. 2010. *Pengaruh Hepatoprotektor Madu Terhadap Kerusakan Histologis Sel Hepar Mencit (Mus musculus) yang Diberi Perlakuan Natrium Siklamat*. Universitas Sebelas Maret.

- Figueroa M, Fernandez V, Salinas MA, Ahumada DC, Villagrán M, Cornejo F, Vargas E, Latorre M, Morales E, Vásquez C, Arenas F. 2018. Synthesis and Antibacterial Activity of Metal (loid) Nanostructures by Environmental Multi Metal (loid) Resistant Bacteria and Metal(loid)-Reducing Flavoproteins. *Frontiers in Microbiology* 9: 1-15.
- González CEE, Cervantes JG, Rodríguez AV, Peralta LZM, González MTT, Castro EDB, Salazar EMS, Morales RMC, Soto DIR, González FMT, Rosales JIC, Cruz RV, Ramírez JRM. 2018. In Vivo Antimicrobial Activity of Silver Nanoparticles Produced via a Green Chemistry Synthesis Using *Acacia rigidula* as a Reducing and Capping Agent. *International Journal of Nanomedicine* 13: 2349-2363.
- Gurunathan S, Kalishwaralal K, Vaidyanathan R, Deepak V, Pandian SRK, Muniyandi J, Hariharan N, Eom SH. 2009. Biosynthesis, Purification and Characterization of Silver Nanoparticles Using *Escherichia coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 74(1): 328-335.
- Howe PD, Dobson S. 2002. *Silver and Silver Compound: Environmental Aspect*. World Health Organization. Geneva.
- Jahanian R, Ashnagar M. 2015. Effect of Dietary Supplementation of Mannan Oligosaccharides on Performance, Blood Metabolites, Ileal Nutrient Digestibility and Gut Microflora in *Escherichia coli*-Challenged Laying Hens. *Poultry Science* 94: 94(9): 2165-2172.
- Jorgensen JH, Carroll KC, Funke G, Pfaller MA, Landry ML, Richter SS, Warnock W. 2015. *Manual of Clinical Microbiology*, 11th ed. Washington, DC: ASM Press
- Monteagudo-Mera A, Rastall RA, Gibson GR, Charalampopoulos D, Chatzifragkou A. 2019. Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied Microbiology and Biotechnology* 103(16): 6463-6472.
- Naughton PJ, Mikkelsen LL, Jensen BB. 2001. Effects of Nondigestible Oligosaccharides on *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and Nonpathogenic *Escherichia coli* in the Pig Small Intestine In Vitro. *Applied and Environmental Microbiology* 67(8): 3391-3395.
- Sakena KDA, Peerakietkhajorn S, Siringoringo B, Muangnil P, Wichienchot S, Khuituan P. 2020. Oligosaccharides from *Gracilaria fisheri* Ameliorate Gastrointestinal Dysmotility and Gut Dysbiosis in Colitis Mice. *Journal of Functional Foods* 71: 1-10.
- Sangkuanun T, Wichienchot S, Kato Y, Watanabe H, Peerakietkhajorn S. 2020. Oligosaccharides Derived from Dragon Fruit Modulate Gut Microbiota, Reduce Oxidative Stress and Stimulate Toll-Pathway Related Gene Expression in Freshwater Crustacean *Daphnia magna*. *Fish and Shellfish Immunology* 130: 126-134.
- Schlee M, Wehkamp J, Altenhoefer A, Oelschlaeger TA, Stange EF, Fellermann K. 2007. Induction of Human Beta-Defensin 2 by the Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is Mediated Through Flagellin. *American Society for Microbiology* 75(5): 2399-2407.
- Sekarwati N. 2014. *Dampak Logam Berat Cu (Tembaga) Dan Ag (Perak) Pada Limbah Cair Industri Perak Terhadap Kualitas Air Sumur Dan Kesehatan Masyarakat Serta Upaya Pengendaliannya Di Kota Gede Yogyakarta*. Tesis. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Ukena SN, Singh A, Dringenberg U, Engelhardt R, Seidler U, Hansen W, Bleich A, Bruder D, Franzke A, Rogler G, Suerbaum S, Buer J, Gunzer F, Westendorf AM. 2007. Probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 Inhibits Leaky Gut by Enhancing Mucosal Integrity. *Plosone* 2(12): 1-9.