

Deteksi dan Karakterisasi *Enterococcus* sp., pada Daging Ayam di Pasar Tradisional di Kota Yogyakarta, Indonesia

*(DETECTION AND CHARACTERIZATION OF
ENTEROCOCCUS SP. FROM RAW CHICKEN MEAT IN
YOGYAKARTA CITY TRADITIONAL MARKETS OF INDONESIA)*

**Putri Hayuning Tyas, Halimah Atina Hikmah, Auffar Maghfi Baiquni,
Yashinta Ira Palupi, Rosa Bakti Mahmudah, Deva Beylla Revanda,
Fayruz Farah, Aisyah Syahalia Puanna Syifa,
Morsid Andityas, Fatkhanuddin Aziz***

Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Veteriner,
Departemen Teknologi Hayati dan Veteriner,
Sekolah Vokasi, Universitas Gadjah Mada,
Jl. Yacarana, Sekip Unit II, Bulaksumur,
Caturtunggal, UGM, Yogyakarta, Indonesia 55281
(0274) 556771; *Email: fatkhanuddin.aziz@mail.ugm.ac.id

ABSTRACT

Raw chicken meat is a source of animal protein widely consumed by Indonesians, but it is susceptible to contamination by pathogenic bacteria, including *Enterococcus* sp., which is recognized an indicator of fecal contamination and a carrier of virulence and antibiotic resistance. This study was aimed to isolate and characterize *Enterococcus* sp., from raw chicken meat from three traditional markets in Yogyakarta City using microbiological and molecular methods. This research was designed as a preliminary exploratory study to investigate the presence and characteristics of *Enterococcus* sp., in chicken meat. A total of 12 broiler chicken breast meat samples were collected from three traditional markets in Yogyakarta City. Isolation was carried out through an enrichment stage using Buffered Peptone Water, then planted on AccuDia™ EF Agar selective-differential media. Selected colonies were tested biochemically (Gram staining, catalase test, 6,5% NaCl tolerance, and glucose and lactose fermentation). Species determination was carried out using the multiplex Polymerase Chain Reaction colony technique and confirmed through target gene sequencing. The results revealed that *Enterococcus* sp., were detected in all analyzed samples (12/12) with some colonies showing color variations outside of manufacturer's instructions. A total of 44 selected isolates were Gram-positive cocci, catalase-negative, tolerant to 6,5% NaCl, and able to ferment glucose and lactose. Molecular testing identified two main species, namely *Enterococcus faecalis* (27,3%) and *E. faecium* (72,7%), which were confirmed through sequencing analysis. These findings indicate the potential contamination of chicken meat with *E. faecalis* and *E. faecium* in the traditional markets examined in this preliminary study. Further studies involving larger sample sizes and the characterization of antimicrobial

resistance and virulence genes are necessary to obtain a more comprehensive understanding of the potential public health risks and to support improved hygiene and food safety monitoring.

Keywords: Raw chicken meat; Detection; *Enterococcus* sp.; Traditional market of Yogyakarta

ABSTRAK

Daging ayam merupakan sumber protein hewani yang banyak dikonsumsi masyarakat Indonesia. Namun, rentan terkontaminasi bakteri patogen, termasuk *Enterococcus* sp., yang berpotensi sebagai indikator kontaminasi fekal dan pembawa sifat virulensi serta resistansi antibiotik. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi *Enterococcus* sp., asal daging ayam dari tiga pasar tradisional di Kota Yogyakarta menggunakan metode mikrobiologi dan molekuler. Penelitian ini merupakan studi eksploratif awal (*preliminary exploratory study*) yang bertujuan untuk mengeksplorasi keberadaan dan karakteristik *Enterococcus* sp., pada daging ayam. Sebanyak 12 sampel daging ayam pedaging (*broiler*) bagian dada dikoleksi dari tiga pasar tradisional di Kota Yogyakarta. Isolasi dilakukan melalui tahap *enrichment* menggunakan *Buffered Peptone Water*, kemudian ditanam pada media selektif-diferensial AccuDia™ EF Agar. Koloni terpilih diuji secara biokimia (pewarnaan Gram, uji katalase, toleransi NaCl 6,5%, dan fermentasi glukosa serta laktosa). Penentuan spesies dilakukan dengan teknik koloni *multiplex* Polymerase Chain Reaction dan diteguhkan melalui sekuensing gen target. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Enterococcus* sp., terdeteksi pada seluruh sampel yang dianalisis (12/12) dengan beberapa koloni menunjukkan variasi warna di luar petunjuk pabrik. Sebanyak 44 isolat terpilih memiliki karakter Gram positif berbentuk kokus, katalase negatif, toleran NaCl 6,5% serta mampu memfermentasi glukosa dan laktosa. Uji molekuler mengidentifikasi dua spesies utama, yaitu *Enterococcus faecalis* (27,3%) dan *E. faecium* (72,7%), yang terkonfirmasi melalui analisis sekuensing. Temuan ini menunjukkan adanya potensi kontaminasi *E. faecalis* dan *E. faecium* pada daging ayam yang diperdagangkan di pasar tradisional yang diamati dalam studi awal ini. Diperlukan penelitian lanjutan dengan jumlah sampel lebih besar serta analisis gen resistansi dan virulensi untuk memperoleh gambaran risiko kesehatan masyarakat yang lebih komprehensif, sekaligus memperkuat upaya pengawasan hygiene dan keamanan pangan.

Kata-kata kunci: daging ayam; deteksi *Enterococcus* sp.; pasar tradisional Kota Yogyakarta

PENDAHULUAN

Daging ayam merupakan komoditas strategis yang mendominasi pemenuhan kebutuhan protein hewani masyarakat di berbagai negara berkembang, termasuk Indonesia, karena ketersediaannya yang tinggi dan harganya yang relatif terjangkau dibandingkan daging merah. Data Badan Pusat Statistik tahun 2023, menunjukkan rata-rata konsumsi daging ayam ras telah meningkat

signifikan, dari 3,96 kg/kapita/tahun pada tahun 2014 menjadi 7,46 kg/kapita/tahun pada tahun 2023, menunjukkan potensinya sebagai salah satu pilihan utama protein hewani penduduk Indonesia. Selain kandungan nutrisi yang baik, daging ayam diketahui mudah terkontaminasi bakteri penyebab berbagai penyakit pada manusia (Ali dan Alsayeqh, 2022; Wardhana *et al.*, 2021). Beberapa bakteri patogen tersebut di antaranya *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Lis-*

teria sp., *Shigella* sp., *Campylobacter* sp., *Clostridium* sp., *Bacillus* sp. (Arabi *et al.*, 2025; Egide *et al.*, 2025) dan *Enterococcus* sp. (Howlander *et al.*, 2025; Kim *et al.*, 2018) Kontaminasi bakteri terjadi karena kebersihan yang kurang memadai selama proses penanganan daging, meliputi kontak dengan operator, lingkungan, peralatan dan air (Ali dan Alsayeqh, 2022; Tagar dan Qambrani, 2023; Wardhana *et al.*, 2021).

Enterococcus sp., merupakan bakteri Gram-positif berbentuk kokus yang dapat memproduksi asam laktat, bersifat anaerobik fakultatif, negatif uji katalase dan tidak menghasilkan spora. Bakteri ini umum ditemukan sebagai mikrobiota dalam sistem pencernaan serta feses hewan dan manusia, sebagian spesies lain juga ditemukan dalam air, tanah, tumbuhan dan makanan (Chye-rochana *et al.*, 2020; de Brito *et al.*, 2024; Erol *et al.*, 2024). Deteksi *Enterococcus* sp., pada daging ayam penting dilakukan karena bakteri ini berpotensi menjadi indikator kontaminasi fekal sekaligus reservoir gen resistansi antibiotik yang dapat berpindah melalui rantai pangan dan menimbulkan risiko bagi kesehatan masyarakat (Castaño-Arriba *et al.* 2020; Klaharn *et al.*, 2022; Martinez-Laorden *et al.*, 2023). Infeksi *Enterococcus* sp., pada manusia umumnya bersifat nosokomial yang menyebabkan penyakit serius pada pasien yang dirawat di rumah sakit seperti infeksi saluran kemih, bakteremia, endokarditis, infeksi intra-abdomen, meningitis, serta infeksi kulit/luka (Andriani *et al.*, 2024; Michaux *et al.*, 2023). Lebih lanjut, *Enterococcus* sp., sering diasosiasikan dengan *Healthcare-Associated Infections* (HAIs) dan beberapa galur *Enterococcus* sp., patogen telah resistan terhadap berbagai golongan antibiotik, termasuk *Vancomycin-Resistant Enterococci* (VRE), yang membatasi pilihan pengobatan (Radford-Smith dan Anthony, 2025). Kontaminasi tinja (*fecal contamination*) dalam air merupakan masalah global dari *Enterococcus* sp., karena dapat menyebabkan banyak penyakit yang ditularkan melalui konsumsi maupun penggunaan air. Bakteri tersebut sering di-

jumpai pada feses dan air sehingga bakteri *Enterococcus* sp., sering digunakan sebagai indikator kualitas air (Aragónés *et al.*, 2016; Chang *et al.*, 2024; Jokinen *et al.*, 2020; Ragot dan Villemur, 2022).

Secara umum, isolasi bakteri dalam genus *Enterococcus* sp., sulit dilakukan menggunakan media mikrobiologi non-selektif standar karena sifat *pleomorfik* dan laju pertumbuhannya yang sering terhambat oleh mikroflora kompetitor (Massoli *et al.*, 2021; Peterson *et al.*, 2024). Genus ini memiliki karakter mikrobiologi yang mirip dengan bakteri Gram positif lain, terutama genus *Streptococcus*, sehingga memerlukan media selektif untuk mendapatkan biakan murni (Davis *et al.*, 2022; Yilmaz *et al.*, 2025). Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan keberadaan *Enterococcus* sp., pada produk unggas di berbagai negara, informasi mengenai karakterisasi spesies *Enterococcus* sp., pada daging ayam yang diperdagangkan di pasar tradisional di Indonesia, khususnya di Kota Yogyakarta, masih sangat terbatas. Selain itu, data mengenai evaluasi penggunaan media selektif-diferensial EF agar untuk isolasi *Enterococcus* sp., dari daging ayam juga masih jarang dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan karakterisasi isolat *Enterococcus* sp., asal daging ayam dari pasar tradisional di kota Yogyakarta dengan media selektif-diferensial, serta meneguhkan spesiesnya melalui uji molekuler. Penelitian ini juga diharapkan memberikan informasi awal mengenai variasi spesies *Enterococcus* sp., yang terisolasi dari daging ayam sebagai bahan pangan asal hewan.

METODE PENELITIAN

Koleksi Sampel

Penelitian ini merupakan studi eksploratif awal (*preliminary exploratory study*) yang bertujuan untuk mendeteksi serta mengkarakterisasi *Enterococcus* sp., pada sampel daging ayam dari pasar tradisional di Kota Yogyakarta. Studi ini dilakukan seba-

gai investigasi awal untuk mengevaluasi keberhasilan metode isolasi menggunakan media selektif-diferensial (AccuDia™ EF Agar Base, Shimadzu Diagnostics Co., Ibaraki, Jepang) serta konfirmasi molekuler menggunakan *multiplex Polymerase Chain Reaction* (PCR) sebelum diterapkan pada survei dengan skala yang lebih luas. Sebanyak 12 sampel daging ayam dikoleksi dari tiga pasar tradisional di Kota Yogyakarta. Sampel dikoleksi dengan teknik *convenience sampling*, dengan kriteria daging ayam *broiler* bagian dada (*musculus pectoralis*). Sampel yang diperoleh kemudian diletakkan di dalam *cool box* yang berisi *ice pack* dan segera diproses di fasilitas laboratorium Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Veteriner, Sekolah Vokasi UGM. Bakteri *Enterococcus* sp., dilakukan proses *enrichment* menggunakan *Buffered Peptone Water* (BPW™, HiMedia, Mumbai Maharashtra, India) dengan perbandingan sampel dan media *enrichment* yaitu 1:9 (Aslam *et al.*, 2012; Nurrahmat *et al.*, 2025). Sebanyak 5 g sampel daging ayam disuspensikan ke dalam 45 mL media BPW dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 42°C. Suhu 42°C digunakan sebagai filter selektif fisiologis untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang sensitif pada suhu di atas 37°C (Gaca dan Lemos, 2019; Nurrahmat *et al.*, 2025).

Media Selektif-Diferensial *Enterococcus* sp

Bakteri *Enterococcus* sp., diisolasi menggunakan media selektif-diferensial (AccuDia™ EF Agar Base, Shimadzu, Ibaraki, Jepang). Media EF dibuat sesuai petunjuk pabrik. Sebanyak 54,5 g media EF ditimbang dan ditambahkan 0,25 g Sodium Azide (Sodium azide, extra pure [1.06688]™, Merck, Darmstadt, Jerman) dalam 1000 mL akuades. Media kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf (All American Autoclave Sterilizer™, Wisconsin Aluminium Foundry Co., Manitowoc Wisconsin, Amerika Serikat) dengan suhu 105°C selama 15 menit. Media didinginkan hingga suhu $\pm 60^\circ\text{C}$, lalu ditambahkan 10 mL larutan 1,5% 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC). Campuran dihomogenkan dan

kemudian dituang pada cawan petri sekali pakai (*disposable plate*) steril (Petridish Plastik Steril OneMed™, PT Jayamas Medica Industri Tbk, Sidoarjo, Indonesia) hingga memadat. Sampel yang telah dilakukan *enrichment* pada media BPW sebelumnya kemudian diencerkan dengan *Phosphate Buffered Saline* (PBS™, Sigma-Aldrich, St. Louis Missouri, Amerika Serikat) steril dengan pengenceran 500×. Sebanyak 100 µL diinokulasi pada media EF menggunakan metode *spread*, selanjutnya diinkubasi selama ± 48 jam pada suhu 37°C. Representasi koloni yang tumbuh dengan warna yang berbeda pada tiap sampel kemudian dilanjutkan uji biokimia. Senyawa so-dium azida yang digunakan pada penelitian ini ditangani sesuai standar keamanan laboratorium dengan penggunaan sarung tangan nitril, jas laboratorium, dan kaca mata pengaman atau pelindung mata.

Uji Biokimia

Karakter biokimia koloni *Enterococcus* sp., yang tumbuh dari media EF dikonfirmasi melalui pewarnaan Gram (Gram Staining Kit™, HiMedia, Mumbai Maharashtra, India), pertumbuhan pada media *Trypticase Soy Agar* NaCl 6,5% (TSA™, Himedia, Mumbai Maharashtra, India), uji katalase dengan Hydrogen Peroxide 3% (Perhydrol®, Merck, Darmstadt, Jerman), dan uji fermentasi *phenol red broth* (Phenol red broth base™, Sigma-Aldrich, St. Louis Missouri, Amerika Serikat) dengan karbohidrat glukosa dan laktosa (BD Difco™, Becton Dickinson, New Jersey, Amerika Serikat) (Adesida *et al.*, 2017; Asadian *et al.*, 2016; Manero dan Blanch, 1999). Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan kode isolat PGT dari penelitian sebelumnya digunakan sebagai kontrol positif uji katalase (Aziz *et al.*, 2025).

Deteksi Spesies dengan Teknik Koloni dan Multipleks PCR

Deteksi spesies *Enterococcus* sp., dilakukan dengan teknik koloni PCR (No-mura *et al.*, 2018; Park *et al.*, 2017).

Tabel 1. Primer yang digunakan sesuai referensi Nomura *et al.* (2018).

Species		Sequence	Product bp
16S rRNA	F	AACAGGATTAGATACCCTGGTAGTC	151
	R	GYCCCCGTCAATTCMTTTRAGTTT	
<i>E. gallinarum</i>	F	GATGTATCGCTTCTATCCGC	1009
	R	CGACATCGGTTAAAAAGGCTTG	
<i>E. faecium</i>	F	CAGTGCATGTGCCATGGATA	426
	R	ACTTCGGCTGGAATCTGCAT	
<i>E. faecalis</i>	F	CAGAAGTGAAGAGCACGATG	711
	R	GCGACATCTTTCACCACTTC	
<i>E. avium</i>	F	AGTTGAAGGTTTCAGCGGCA	837
	R	GCCTGTTGTTTCGTAGCGCTT	
<i>E. hirae</i>	F	GATTCTCGTGCGATCGTTGA	327
	R	TTGCGTGAATCCAGGCATTG	
<i>E. durans</i>	F	ATTTACCTTATGTGGGCGCG	517
	R	GGCAAGTTTCGCATACTCCT	
<i>E. raffinosus</i>	F	ATCCTGCAAGCAGCCGGTAT	634
	R	GCTCATGACGCTTTGTACCT	
<i>E. casseliflavus</i>	F	GAAGGACGCTGGTTAAAAGG	917
	R	GGTCAAGAACGAACGTCTTTG	

Isolat yang menunjukkan hasil Gram positif berbentuk kokus, positif pada uji gula-gula, tumbuh pada TSA+NaCl 6,5% serta hasil negatif pada uji katalase kemudian ditumbuhkan pada media TSA. Spesies bakteri *Enterococcus* sp., diteguhkan dengan multiplex PCR (Nomura *et al.*, 2018; Park *et al.*, 2017). Koloni PCR dari media TSA dimasukkan menggunakan tusuk gigi steril ke dalam tabung PCR 0,2 mL (Biologix PCR tube™, Biologix Research Co., Jinan Shandong, Tiongkok) yang berisi 6,25 µL mastermix (My Taq™ HS Red Mix, Meridian Life Science Inc., Cincinnati Ohio, Amerika Serikat) dan 6,25 µL campuran primer spesifik spesies (Tabel 1). Seluruh primer pada penelitian ini dibeli dari Macrogen, Singapura. Campuran dalam tube selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex (DLAB MX-S™, DLAB, Beijing, Tiongkok) dan dipusing atau *spindown* (DLAB D1008 Mini Centrifuge™, DLAB, Beijing, Tiongkok) beberapa detik kemudian dimasukkan ke dalam mesin *thermal cycler* (SelectCycler II Thermal Cycler™, Select BioProducts, Taipei, Taiwan).

Amplifikasi gen target dilakukan dengan program PCR yaitu predenaturasi 95°C selama 120 detik, denaturasi 95°C (30 detik), *annealing* 64°C (60 detik), Ekstensi 72°C (30 detik), dan *post*-ekstensi 72°C (300 detik) dengan total sebanyak 30 siklus. Produk PCR dielektroforesis dalam 1,5% gel agarose (Agarose™, HiMedia, Mumbai Maharashtra, India) dengan DNA *staining* (FluoroVue™, SMOBIO Technology Inc, Hsinchu, Taiwan) yang dilarutkan dalam Tris Borate EDTA buffer 1× yang terdiri atas 89 mM Tris pH 7,6 (Tris Base™, HiMedia, Mumbai Maharashtra, India), 89 mM asam borat (Boric Acid Bioultra™, Sigma-Aldrich, St. Louis Missouri, Amerika Serikat), dan 2 mM *Ethylenediaminetetraacetic acid* atau EDTA (Hi-AR™, HiMedia, Mumbai, Maharashtra, India). Sebanyak 4 µL produk PCR dan 2,5 µL 100 bp DNA *ladder* (AccuBand DM2400™, Smobio Technology Inc., Hsinchu, Taiwan) dimasukkan dalam sumuran agarose berbeda, kemudian dielektroforesis pada *submarine electrophoresis system* (Mupid-exU™, Mupid Co, Tokyo, Jepang) dengan tegangan 135 volt selama 20 menit.

Separasi ampikon divisualisasi menggunakan *Light Emitting Diode* (LED) Trans-illuminator (Blu-PAD™, Bio-Helix, New Taipei City, Taiwan). Penelitian ini memiliki keterbatasan kontrol positif isolat *Enterococcus* sp., untuk itu perlu dilakukan verifikasi spesies menggunakan metode sekuensing pada produk PCR yang muncul, sedangkan kontrol negatif PCR tidak diberikan karena desain primer dari Nomura *et al.* (2018) telah menggunakan 16S rRNA sebagai kontrol bakteri sekaligus kontrol negatif PCR.

Peneguhan Spesies dengan Sekuensing

Spesies dari multipleks PCR kemudian diverifikasi dengan teknik sekuensing. Isolat K1 dan K2 dipilih untuk disekuensing karena merupakan isolat pertama dan kedua yang terdeteksi secara berurutan sebagai *E. faecalis* dan *E. faecium* pada penelitian ini dengan ukuran produk PCR sesuai referensi Nomura *et al.* (2018). Ekstraksi DNA isolat K1 dan K2 dilakukan menggunakan kit ekstraksi DNA genomik (gSYNCTM DNA Extraction Kit, Geneaid Biotech Ltd, New Taipei, Taiwan) sesuai petunjuk pabrik. Kemudian gen target spesies diamplifikasi dengan *high-fidelity* DNA polymerase (KOD FX (Code No. KFX-101™, Twist Bioscience Co., Tokyo, Jepang) dan primer simpleks seperti pada Tabel 1. Produk PCR kemudian disekuensing dua arah menggunakan primer *Forward* dan *Reverse* untuk spesies *E. faecalis* dan *E. faecium* dengan metode *sanger* di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu UGM. Hasil sekuensing kemudian dianalisis dengan *Basic Local Alignment Search Tool* (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk penentuan spesies.

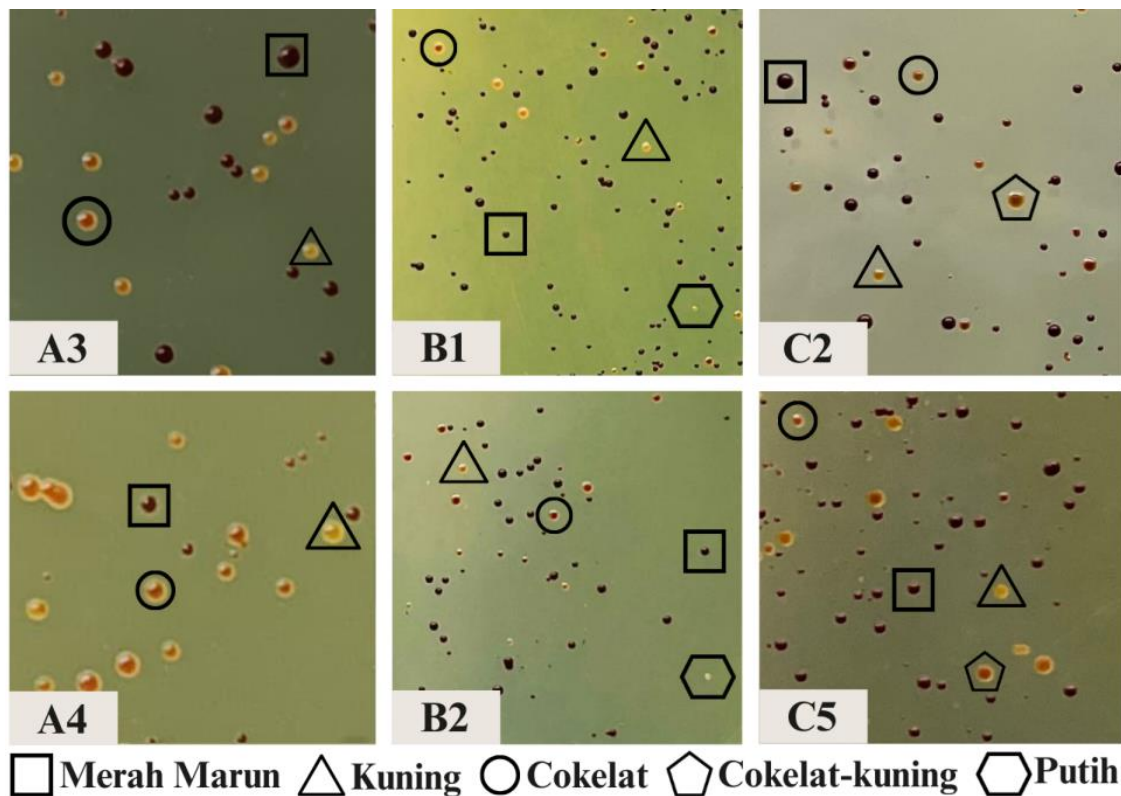
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil inkubasi media EF selama dua hari menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri pada seluruh sampel daging ayam yang diuji. Temuan ini menggambarkan hasil yang diperoleh pada sampel yang dianalisis dalam penelitian eksploratif ini dan tidak dimak-

sudkan untuk merepresentasikan tingkat kontaminasi pada seluruh daging ayam yang beredar di Kota Yogyakarta. Koloni-koloni tunggal yang terbentuk berwarna merah marun, cokelat, kuning, cokelat-kuning dan putih (Gambar 1). Media EF diketahui merupakan media selektif-diferensial untuk genus *Enterococcus* sp. Sesuai petunjuk pabrik, tujuan utama penggunaan media EF adalah untuk mendeteksi *E. faecalis* dengan koloni berwarna merah muda atau merah marun, sementara *E. faecium* berwarna kuning.

Perbedaan warna koloni pada bakteri tersebut disebabkan karena penambahan TTC. Reagen TTC mampu mendeteksi metabolisme bakteri dan direduksi menjadi senyawa berwarna (formazan) (Defez *et al.*, 2017). Semakin gelap warna yang dihasilkan suatu koloni bakteri menandakan semakin banyak bakteri tersebut mereduksi TTC (Małachowska-Jutcz dan Matyja, 2019). Di lain hal, pertumbuhan bakteri Gram negatif dihambat dengan penambahan sodium azida (NaN₃). Sodium azida bekerja sebagai agen bakteriostatik terhadap bakteri Gram-negatif dengan menghambat respirasi seluler (Davis *et al.*, 2022; de Oliveira *et al.*, 2017). Zat sodium azida ini bekerja dengan mengikat heme-iron dalam sitokrom oksidase yang merupakan enzim kunci dalam rantai transpor elektron, secara efektif mencegah bakteri menggunakan oksigen dan menghentikan produksi energi (ATP) (Bowler *et al.*, 2006). Gangguan tersebut menyebabkan asfiksia kimiawi pada sel, sehingga menghambat pertumbuhannya (Cabrol *et al.*, 2017).

Penelitian ini menunjukkan warna koloni dari sampel daging ayam pada media EF memiliki variasi warna berbeda dengan informasi pabrik. Total 44 koloni yang dipilih kemudian dilanjutkan ke uji biokimia (Tabel 2). Menariknya, seluruh (44/44) isolat yang diuji dengan warna koloni yang bervariasi pada media EF memperlihatkan karakter biokimia yang sama yaitu Gram positif berbentuk kokus (Gambar 2A), kata-lase negatif (Gambar 2B), tumbuh pada media TSA dengan kadar garam 6.5% (Gambar 2C) dan memfermentasi glukosa dan laktosa (Gambar 2D).



Gambar 1. Diferensiasi warna koloni bakteri *Enterococcus* sp. pada media diferensial selektif. Kode sampel ditunjukkan dalam kotak, sedangkan simbol dibawah gambar menunjukkan warna koloni.

Menurut Abd El-Hamid *et al.* (2025) dan El-Zowalaty *et al.* (2023), bakteri *Enterococcus* sp., tumbuh pada media kompleks yang kaya nutrisi, memiliki karakteristik biokimia Gram positif dengan bentuk kokus yang tidak membentuk spora, dengan sifat katalase negatif, anaerob fakultatif, serta mampu tumbuh pada suhu 10–45°C dengan pH 9.6 dan 6,5 % NaCl. Kemampuan *Enterococcus* sp., memfermentasi glukosa dan laktosa disebabkan oleh keberadaan β -galaktosidase serta sistem metabolisme karbohidrat (Huang *et al.*, 2023; Nami *et al.*, 2019). Beberapa spesies *Enterococcus* sp., seperti *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum* dan *E. avium* diketahui memiliki karakter biokimia yang sama (Manero dan Blanch, 1999).

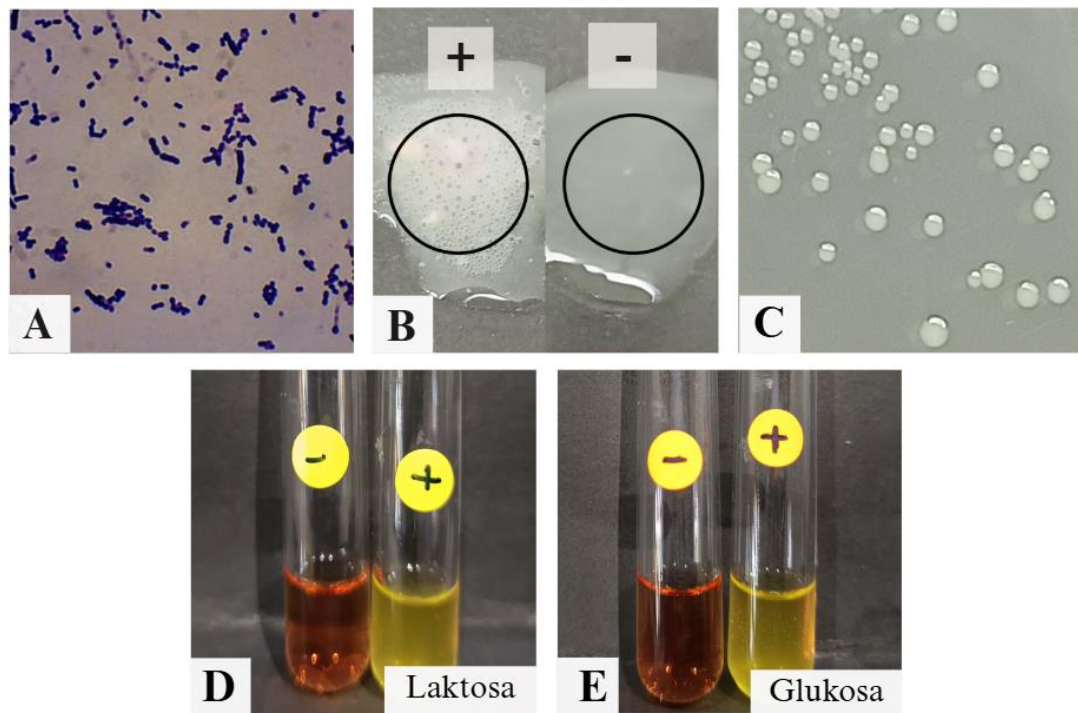
Selanjutnya untuk menentukan spesies yang lebih akurat, seluruh isolat dilakukan uji molekuler. Hasil koloni PCR 44 isolat menunjukkan 2 spesies yang terdeteksi yaitu *E. faecalis* sebesar 27,3% dan *E. faecium* 72,7% (Tabel 2). Elektroforesis agarose

produk PCR pada Gambar 3 menunjukkan *E. faecalis* memiliki pita sekitar 711 bp dan *E. faecium* sekitar 426 bp, hasil tersebut sesuai dengan referensi (Nomura *et al.*, 2018). Tabel 2 memperlihatkan seluruh isolat dengan warna merah marun, terkonfirmasi *E. faecalis*, sedangkan warna koloni lainnya yaitu cokelat, kuning, cokelat-kuning dan putih, semuanya teridentifikasi *E. faecium*. Kemudian untuk meneguhkan spesies dari produk PCR 711 bp dan 426 bp tersebut kemudian disekuensing. Hasil BLAST pada Gambar 4 menunjukkan basa nukleotida dari produk PCR 711 bp merupakan *E. faecalis* (Gambar 4A) dan 426 bp terkonfirmasi *E. faecium* (Gambar 4B). Hasil sekuensing tersebut membuktikan spesifisitas primer untuk penentuan spesies. Hal ini memperlihatkan pentingnya uji molekuler untuk penentuan spesies yang akurat.

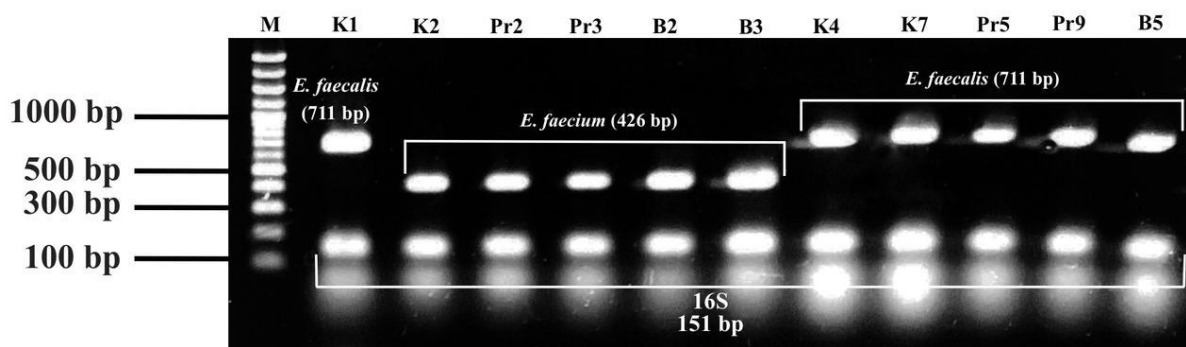
Penelitian ini mengonfirmasi awal bahwa *E. faecalis* dan *E. faecium* merupakan spesies kontaminan utama *Enterococcus* sp.,

Tabel 2. Hasil uji mikrobiologi dan molekuler isolat *Enterococcus* sp., asal daging ayam

Pasar	Pen- jual	Kode isolat	Warna koloni pada media EF	Pw Gram	Uji biokimia				PCR spesies
					Kata- lase	NaCl 6,5%	Uji gula		
							lak	glu	
A	1	K1	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		K2	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		K3	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	2	K4	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		K5	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		K6	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	3	K7	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		K8	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		K9	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	4	K10	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		K11	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		K12	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
B	1	B1	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		B2	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B3	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B4	Putih	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	2	B5	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		B6	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B7	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B8	Putih	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	3	B9	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		B10	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B11	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B12	Putih	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	13	B13	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		B14	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B15	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		B16	Putih	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
C	1	Pr 1	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		Pr 2	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 3	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 4	Cokelat-kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	2	Pr 5	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		Pr 6	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 7	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 8	Cokelat-kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	3	Pr 9	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		Pr 10	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 11	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 12	Cokelat-kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
	4	Pr 13	Merah marun	+	-	+	+	+	<i>E. faecalis</i>
		Pr 14	Cokelat	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 15	Kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>
		Pr 16	Cokelat-kuning	+	-	+	+	+	<i>E. faecium</i>



Gambar 2. Identifikasi biokimia bakteri terduga *Enterococcus* sp. asal daging ayam. (A) Hasil pengecatan Gram positif *coccus*. (B) Uji katalase menggunakan pereaksi 3% H_2O_2 . (C) Toleransi bakteri pada TSA dengan NaCl 6,5%. (D) Fermentasi karbohidrat laktosa. (E) Fermentasi karbohidrat Glukosa.



Gambar 3. Hasil analisis BLAST produk sekuensing PCR simpleks spesies *Enterococcus* sp., (A). Spesies *E. faecalis* dari produk PCR 711 bp. (B). Spesies *E. faecium* produk PCR 426 bp.

A									
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
☒ Enterococcus faecalis strain ES-90-2 chromosome complete genome	Enterococcus faecalis	1110	1110	99%	0.0	98.42%	3150274	CP138641	
☒ Enterococcus faecalis isolate 26975_2#91 genome assembly chromosome_1	Enterococcus faecalis	1110	1110	99%	0.0	98.42%	2767586	LR962161	
☒ Enterococcus faecalis isolate 27688_1#215 genome assembly chromosome_1	Enterococcus faecalis	1110	1110	99%	0.0	98.42%	2953057	LR962321	

B									
Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession	
☒ Enterococcus faecium strain C6069 chromosome complete genome	Enterococcus faecium	595	595	98%	4e-169	98.52%	2846630	CP174702.1	
☒ Enterococcus faecium NUTM-VRE32 DNA complete genome	Enterococcus faecium	595	595	98%	4e-169	98.52%	2886064	AP031276.1	
☒ Enterococcus faecium strain PR02395-7 chromosome complete genome	Enterococcus faecium	595	595	98%	4e-169	98.52%	2846589	CP064443.1	

Gambar 4. Hasil analisis BLAST produk sekuensing PCR simpleks spesies *Enterococcus* sp., (A). Spesies *E. faecalis* dari produk PCR 711 bp. (B). Spesies *E. faecium* produk PCR 426 bp.

pada daging ayam di pasar tradisional di Kota Yogyakarta. Namun demikian, temuan ini didasarkan pada jumlah sampel yang terbatas sehingga tidak dimaksudkan untuk menggambarkan prevalensi populasi secara epidemiologis.

Penelitian lain telah melaporkan tingginya kontaminasi oleh dua spesies bakteri tersebut dibanding *Enterococcus* sp., lainnya pada daging ayam. Studi Martinez-Laorden *et al.* (2023) di Spanyol, melaporkan kontaminasi *E. faecalis* sebesar 68% (34/50) dan *E. faecium* 36% (18/50). Penelitian Rebelo *et al.* (2023) memperlihatkan kontaminasi *E. faecalis* sebesar 51% (88/174) dan *E. faecium* 44% (76/174). Studi oleh Manson *et al.* (2019) juga memperlihatkan kontaminasi *E. faecalis* sebesar 50% (170/333) dan *E. faecium* 41,7% (139/333). Dominannya *E. faecalis* dan *E. faecium* sebagai kontaminan pada daging ayam secara konsisten dilaporkan pada berbagai studi, menegaskan peran keduanya sebagai spesies *Enterococcus* sp., yang paling relevan dari sisi keamanan pangan dan kesehatan masyarakat. Menariknya hasil penelitian ini menunjukkan *E. faecium* (72,7%) jauh lebih dominan dibanding *E. faecalis* (27,3%). Tingkat prevalensi *E. faecium* yang lebih tinggi pada daging ayam mungkin disebabkan oleh dominasinya secara alami dalam mikrobiota usus unggas, toleransi lingkungan yang tinggi dan keunggulan adaptif di bawah tekanan seleksi antimikrob, yang memfasilitasi keberlangsungan dan penyebarannya di sepanjang rantai produksi unggas (Cebeci, 2024; Velhner *et al.*, 2024). Beberapa penelitian melaporkan bahwa *E. faecium* lebih sering diisolasi dari daging ayam dibandingkan spesies *Enterococcus* sp., lainnya, dengan prevalensi mencapai hingga 79% dari isolat *Enterococcus* sp., pada ayam yang dijual di pasaran, menunjukkan dominasinya dalam produk makanan yang berasal dari unggas (Hayes *et al.*, 2003).

Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan adanya kontaminasi ganda *E. faecalis* dan *E. faecium* pada seluruh daging ayam yang dikoleksi dari tiga pasar tradisional berbeda di Yogyakarta. Bakteri *E.*

faecalis dan *E. faecium* merupakan spesies dominan pada daging ayam, memiliki kecenderungan membawa gen virulensi dan resistansi (Cebeci, 2024; Velhner *et al.*, 2024). Peran bakteri ini sebagai indikator kontaminasi silang pada daging ayam, secara fisiologis mampu berkembang meski berada pada media dengan toleransi garam yang tinggi serta unggas berpotensi menjadi reservoir bakteri resistan dalam rantai pangan. Salah satu karakteristik *Enterococcus* sp., memiliki kemampuan untuk tumbuh pada rentang suhu 10-45°C sehingga memungkinkan bakteri tersebut bertahan di lingkungan serta saluran pencernaan hewan dengan suhu tubuh tinggi seperti unggas. Diketahui *E. faecalis* dan *E. faecium* dapat tumbuh di luar rentang suhu normal bakteri pada umumnya di 45°C (Gaca dan Lemos, 2019).

Faktor risiko kontaminasi *Enterococcus* sp., pada daging ayam tidak hanya berasal pada sumber fecal namun dapat dipengaruhi juga oleh faktor higiene dan sanitasi selama pemrosesan. Faktor risiko kontaminasi dapat berasal dari proses pemotongan, biosekuriti, disinfektan kandang, dan sistem produksi daging Castaño-Arriba *et al.* (2020) dan Klaharn *et al.* (2022). Studi lain menunjukkan bahwa isolat *Enterococcus* sp., yang dikumpulkan dari daging ayam selama kurun waktu 20 tahun masih mampu bertahan terhadap tekanan selektif seperti antibiotik, logam tembaga dan pH asam, mengindikasikan bahwa rantai produksi unggas merupakan reservoir jangka panjang untuk bakteri resistan (Rebelo *et al.*, 2023). Selain itu, Son *et al.* (2024), mengungkapkan bahwa isolat *E. faecium* menunjukkan kemampuan membentuk biofilm serta resistansi antibiotik sehingga isolat tersebut dapat bertahan lama pada saat pemrosesan unggas. Sementara itu Garcia-Llorens *et al.*, (2025) mengidentifikasi 29,8% dari total *Enterococcus* sp., pada produk daging unggas merupakan spesies *E. faecium*. Diketahui bakteri tersebut telah resistan terhadap tetrasiklin dan streptogramin.

Enterococcus sp., dikenal sebagai patogen nosokomial yang sangat resistan

terhadap antibiotik, terutama vancomycin dan dapat menyebabkan infeksi serius seperti bakteremia, infeksi aliran darah setelah penggunaan kateter, serta infeksi luka dan saluran kemih (Radford-Smith dan Anthony, 2025).

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan yang perlu diperhatikan. Jumlah sampel yang dianalisis relatif terbatas sehingga hasil penelitian ini tidak dimaksudkan untuk menduga prevalensi kontaminasi *Enterococcus* sp., pada populasi daging ayam secara luas. Pengambilan sampel hanya dilakukan pada beberapa pasar tradisional sehingga kemungkinan variasi sumber kontaminasi pada rantai produksi unggas belum dapat dievaluasi secara komprehensif. Kajian lanjutan diperlukan untuk menentukan sifat resistansi dan faktor virulensi lainnya untuk lebih memahami karakter *Enterococcus* sp., asal daging ayam yang lebih lengkap dan mendalam.

SIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Enterococcus* sp. terdeteksi pada seluruh sampel daging ayam yang dianalisis (12/12). Temuan ini memberikan indikasi awal mengenai keberadaan *Enterococcus* sp., pada daging ayam yang diperdagangkan di pasar tradisional di Kota Yogyakarta. Seluruh isolat yang diperoleh, merupakan Gram positif kokus, katalase negatif, toleran pada NaCl 6,5%, serta dapat memfermentasi karbohidrat glukosa dan laktosa. Pengujian molekuler dengan multipleks PCR diketahui bahwa spesies bakteri kontaminan adalah *E. faecalis* (27,3%) dan *E. faecium* (72,7%).

SARAN

Bakteri *E. faecalis* dan *E. faecium* yang terdeteksi pada daging ayam dari pasar di Kota Yogyakarta menunjukkan ada kontaminasi *fecal* produk asal unggas yang berpotensi bahaya pada manusia. Pengendalian

kontaminasi *Enterococcus* sp., pada daging ayam sangat penting untuk menjaga kesehatan konsumen. Diperlukan penelitian lanjutan dengan jumlah sampel lebih besar serta analisis gen resistansi dan virulensi untuk memperoleh gambaran risiko kesehatan masyarakat yang lebih komprehensif, sekaligus memperkuat upaya pengawasan higiene dan keamanan pangan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Prof. Motoyuki Sugai dan Dr. Junzo Hisatsune dari *Antimicrobial Resistance Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Japan Institute for Health Security*, Tokyo, Jepang atas hibah media AccuDia™ EF Agar Base (Shimadzu, Ibaraki, Japan).

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Hamid MI, Abd El-Aziz NK, Ammar AM, Gharib AA, Ibrahim GA, Moawed BFM, Alshamy H, El-Malt RMS. 2025. Emergence of multi-drug-resistant, vancomycin-resistant, and multi-virulent *Enterococcus* species from chicken, dairy, and human samples in Egypt. *Journal of Applied Microbiology* 136(1): lxaf001. <https://doi.org/10.1093/jambio/lxaf001>
- Adesida SA, Ezenta CC, Adagbada AO, Aladesokan AA, Coker AO. 2017. Carriage of multidrug resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* among apparently healthy humans. *African Journal of Infectious Diseases* 11(2): 83–89. <https://doi.org/10.21010/ajid.v11i2.11>
- Ali S, Alsayeqh AF. 2022. Review of major meat-borne zoonotic bacterial pathogens. *Frontiers in Public Health* 10: 1045599. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1045599>
- Andriani L, Rega M, Bonilauri P, Pupillo G,

- De Lorenzi G, Bonardi S, Conter M, Bacci C. 2024. Vancomycin resistance and virulence genes evaluation in Enterococci isolated from pork and wild boar meat. *Heliyon* 10(14): e34543. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34543>
- Arabi DS, Hamdy O, Abdel-Salam ZA, Mohamed MSM, Abdel-Harith M. 2025. From phylogeny to photonics: A smart spectroscopic approach assisted with neural networks for rapid typing of Enterobacteriaceae isolates from chicken meat. *Microbial Pathogenesis* 209. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.108040>
- Aragonés L, López I, Palazón A, López-Ubeda R, García C. 2016. Evaluation of the quality of coastal bathing waters in Spain through fecal bacteria *Escherichia coli* and *Enterococcus*. *Science of the Total Environment* 566: 288–297. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.106>
- Asadian M, Sadeghi J, Rastegar-Lari A, Razi S, Hasannejad-Bibalan M, Talebi M. 2016. Antimicrobial resistance pattern and genetic correlation in *Enterococcus faecium* isolated from healthy volunteers. *Microbial Pathogenesis* 92: 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.12.014>
- Aslam M, Diarra MS, Checkley S, Bohaychuk V, Masson L. 2012. Characterization of antimicrobial resistance and virulence genes in *Enterococcus* spp. isolated from retail meats in Alberta, Canada. *International Journal of Food Microbiology*, 156(3): 222–230. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.026>
- Aziz F, Fitriana F, Setyorini DR, Prihanani NI, Andityas M. 2025. Biofilm Properties and Their Association to Antibiotic Resistance of *Staphylococcus aureus* from Animal Isolates. *Jurnal Ilmiah Peternakan Terpadu* 13(2): 558-571. <https://jurnal.fp.unila.ac.id/index.php/JIPT>
- Badan Pusat Statistik. 2023. *Statistik Konsumsi Pangan 2023*. Jakarta. Kementerian Pertanian RI.
- Bowler MW, Montgomery MG, Leslie AGW, Walker JE. 2006. How azide inhibits ATP hydrolysis by the F-ATPases. *Biochemistry* 103(23): 8646-8649. <https://doi.org/10.1073/pnas.060291510>
- Cabrol L, Quéméneur M, Misson B. 2017. Inhibitory effects of sodium azide on microbial growth in experimental resuspension of marine sediment. *Journal of Microbiological Methods* 133: 62-65. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2016.12.021>
- Castañó-Arriba A, González-Machado C, Iglesias G, Poeta P, Alonso-Calleja C, Capita R. 2020. Antibiotic resistance and biofilm-forming ability in enterococcal isolates from red meat and poultry preparations. *Pathogens* 9(12): 1–12. <https://doi.org/10.3390/pathogens9121021>
- Cebeci T. 2024. Species prevalence, virulence genes, and antibiotic resistance of enterococci from food-producing animals at a slaughterhouse in Turkey. *Scientific Reports* 14(1): 13191. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-63984-y>
- Chang Y, Sung JH, Lee SW, Lee EH. 2024. Interference-resistant gold nanoparticle assay for detecting *Enterococcus* in fresh and marine waters. *Journal of Hazardous Materials* 478: 135463. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135463>
- Chyerochana N, Kongprajug A, Somnark P, Leelapanang-Kamphaengthong P, Mongkolsuk S, Sirikanchana K. 2020. Distributions of enterococci and human-specific bacteriophages of enterococci in a tropical watershed. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 226: 113482. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113482>
- Davis BC, Keenum I, Calarco J, Liguori K, Milligan E, Pruden A, Harwood VJ. 2022. Towards the standardization of *Enterococcus* culture methods for waterborne antibiotic resistance mo-

- monitoring: A critical review of trends across studies. In *Water Research X* 17: 100161. <https://doi.org/10.1016/j.wroa.2022.100161>
- de Brito LP, da Silva EC, Lins LF, Severo de Medeiros R., Silva FCO, Pastrana L, Cavalcanti IDL., de Britto Lira-Nogueira MC, Cavalcanti MTH, Porto ALF. 2024. Optimization, structural characterization, and biological applications of exopolysaccharide produced by *Enterococcus faecium* KT 990028. *International Journal of Biological Macromolecules* 282: 136926. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136926>
- de Oliveira EF, Cossu A, Tikekar RV, Nitin N. 2017. Enhanced antimicrobial activity based on a synergistic combination of sublethal levels of stresses induced by UV-A light and organic acids. *Applied and Environmental Microbiology* 83(11): e00383-17.. <https://doi.org/10.1128/AEM.00383-17>
- Defez R, Andreozzi A, Bianco C. 2017. Quantification of Triphenyl-2H-tetrazoliumchloride Reduction Activity in Bacterial Cells. *Bio-Protocol* 7(2): 1–7. <https://doi.org/10.21769/bioprotoc.2115>
- Egide H, Zhang J, Wang L, Xu G, Zhang K, Yang Y, Zhang G, Alfred N, Claudious G, Gu X, Guo Z, Zhang P, Li J. 2025. Prevalence of pathogenic bacteria and their antimicrobial patterns analysis of clinical samples from free-range chickens raised in forest farms in Zhouqu county of Gansu Province, China. *Poultry Science* 104(12): 105859. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2025.105859>
- El Zowalaty ME, Lamichhane B, Falgenhauer L, Mowlaboccus S, Zishiri OT, Forsythe S, Hemly YA. 2023. Antimicrobial resistance and whole genome sequencing of novel sequence types of *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, and *Enterococcus durans* isolated from livestock. *Scientific Reports* 13(1) 18609. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42838-z>
- Erol HB, Kaskatepe B, Gocmen D, Ziraman FG. 2024. The treatment of *Enterococcus faecalis* related root canal biofilms with phage therapy. *Microbial Pathogenesis* 197: 107081. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.107081>
- Gaca AO, Lemos JA. 2019. Adaptation to Adversity: the Intermingling of Stress Tolerance and Pathogenesis in Enterococci. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 83(3): e00008-19.. <https://doi.org/10.1128/mmbr.00008-19>
- Garcia-Llorens J, Monroy I, Torres-Boncompte J, Soriano JM, Catalá-Gregori P, Sevilla-Navarro S. 2025. Tracking the Prevalence of Antibiotic Resistance in *Enterococcus* Within the Spanish Poultry Industry: Insights from a One Health Approach. *Antibiotics* 14(1): 16. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14010016>
- Howlader AA, Nahiduzzaman F, Annan RI, Saha A, Islam MA, Khatun MM. 2025. Draft whole-genome sequence of multidrug-resistant *Enterococcus faecium* strain MKL_BAU_Fe01 isolated from chicken meat. *Microbiology Resource Announcements* 14(6): e0004325. <https://doi.org/10.1128/mra.00043-25>
- Hayes JR, English LL, Carter PJ, Proescholdt T, Lee KY, Wagner DD, White DG. 2003. Prevalence and antimicrobial resistance of *Enterococcus* species isolated from retail meats. *Applied and environmental microbiology* 69(12): 7153-7160. doi: [10.1128/AEM.69.12.7153-7160.2003](https://doi.org/10.1128/AEM.69.12.7153-7160.2003)
- Huang G, Zhou Y, Cheng H, Lv T, Zheng L, Li C, Chen Y. 2023. Genome and transcriptome analysis of *Enterococcus faecium* from intestinal colonization and *Enterococcus faecium* from urinary tract infection. *Frontiers*

- in *Microbiology* 14: 1273949. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1273949>
- Jokinen CC, Cook SR, Reuter T, Tymensen L. 2020. Assessing enterococci as an alternative fecal indicator for irrigation water quality. *Agricultural Water Management* 233. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2020.106098>
- Kim YB, Seo HJ, Seo KW, Jeon HY, Kim DK, Kim SW, Lim SK, Lee YJ. 2018. Characteristics of high-Level ciprofloxacin-Resistant *Enterococcus faecalis* and *enterococcus faecium* from retail chicken meat in Korea. *Journal of Food Protection* 81(8): 1357–1363. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-046>
- Klaharn K, Pichpol D, Meeyam T, Harintharanon T, Loha-anukul P, Punyaporn-withaya V. 2022. Bacterial contamination of chicken meat in slaughterhouses and the associated risk factors: A nationwide study in Thailand. *PLoS ONE* 17(6): e0269416. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269416>
- Małachowska-Jutysz A, Matyja K. 2019. Discussion on methods of soil dehydrogenase determination. *International Journal of Environmental Science and Technology* 16(12): 7777–7790. <https://doi.org/10.1007/s13762-019-02375-7>
- Manero A, Blanch AR. 1999. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(10): 4425–4430. <https://doi.org/10.1128/aem.65.10.4425-4430.1999>
- Manson AL, Tyne D, Van, Straub TJ, Clock S, Crupain M, Rangan U, Gilmore MS, Earl AM. 2019. Chicken meat-associated enterococci: Influence of agricultural antibiotic use and connection to the clinic. *Applied and Environmental Microbiology* 85(22): e01559-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.01559-19>
- Martinez-Laorden A, Arraiz-Fernandez C, Gonzalez-Fandos E. 2023. Identification and characterisation of antimicrobial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from pork and poultry meat. *International Journal of Food Science and Technology* 58(8): 4455–4463. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16562>
- Massoli MCB, Cardozo MV, Ferroni LB, Casagrande MF, Nascimento GM, Pollo AS, Iturrino RPS. 2021. *Enterococcus* spp. Survival through the use of standard protocol for clostridium sp. isolation. *Revista Brasileira de Ciencia Avicola / Brazilian Journal of Poultry Science* 23(3). <https://doi.org/10.1590/1806-9061-2020-1368>
- Michaux C, Gerovac M, Hansen EE, Barquist L, Vogel J. 2023. Grad-seq analysis of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* provides a global view of RNA and protein complexes in these two opportunistic pathogens. *MicroLife* 4: uqac027. <https://doi.org/10.1093/femsml/uqac027>
- Nami Y, Bakhshayesh RV, Jalaly HM, Lotfi H, Eslami S, Hejazi MA. 2019. Probiotic properties of *Enterococcus* isolated from artisanal dairy products. *Frontiers in Microbiology* 10: 300. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03000>
- Nomura T, Hashimoto Y, Kurushima J, Hirakawa H, Tanimoto K, Zheng B, Ruan G, Xue F, Liu J, Hisatsune J, Sugai M, Tomita H. 2018. New colony multiplex PCR assays for the detection and discrimination of vancomycin-resistant enterococcal species. *Journal of Microbiological Methods* 145: 69–72. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2017.12.013>
- Nurrahmat AMI, Susetya H, Putri K. 2025. Antibigram profile of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* in chicken meat from supermarkets in Sleman District, Indonesia. *Veterinary World* 18(2): 491–499. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2025.491-499>

- Park J, Jin GD, Pak JI, Won J, Kim EB. 2017. Development of a Rapid Identification Method for the Differentiation of *Enterococcus* Species Using a Species-Specific Multiplex PCR Based on Comparative Genomics. *Current Microbiology* 74(4): 476–483. <https://doi.org/10.1007/s00284-017-1210-5>
- Peterson E, Söderström B, Prins N, Le GHB, Hartley-Tassell LE, Evenhuis C, Grønne-mose RB, Andersen TE, Møller-Jensen J, Iosifidis G, Duggin IG, Saunders B, Harry EJ, Bottomley AL. 2024. The role of bacterial size, shape and surface in macrophage engulfment of uropathogenic *E. coli* cells. *PLoS Pathogens* 20(9). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1012458>
- Radford-Smith DE, Anthony DC. 2025. Vancomycin-Resistant *E. faecium*: Addressing Global and Clinical Challenges. In *Antibiotics* 14(5): 522. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050522>
- Ragot R, Villemur R. 2022. Influence of temperature and water quality on the persistence of human mitochondrial DNA, human Hf183 Bacteroidales, fecal *coliforms* and enterococci in surface water in human fecal source tracking context. *Science of the Total Environment* 838: 156025 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156025>
- Rebelo A, Duarte B, Ferreira C, Mourão J, Ribeiro S, Freitas AR, Coque TM, Willems R, Corander J, Peixe L, Antunes P, Novais C. 2023. *Enterococcus* spp. from chicken meat collected 20 years apart overcome multiple stresses occurring in the poultry production chain: Antibiotics, copper and acids. *International Journal of Food Microbiology* 384: 109981. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109981>
- Son Y, Jin YB, Cho EJ, Park AR, Flores RA, Nguyen BT, Lee SY, Altanzul B, Park KIL, Min W, Kim WH. 2024. Comparative Analysis of Antibiotic Resistance and Biofilm Characteristics of Two Major *Enterococcus* Species from Poultry Slaughterhouses in South Korea. *Veterinary Sciences* 11(4): 180. <https://doi.org/10.3390/vetsci11040180>
- Tagar S, Qambrani NA. 2023. Bacteriological quality assessment of poultry chicken meat and meat contact surfaces for the presence of targeted bacteria and determination of antibiotic resistance of *Salmonella* spp. in Pakistan. *Food Control* 151. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109786>
- Velhner M, Prunić B, Aleksić N, Todorović D, Knežević S, Ljubojević-Pelić D. 2024. Antimicrobial Resistance of *Enterococcus* Isolates from Poultry Farms in the Republic of Serbia (Autonomous Province of Vojvodina). *Microorganisms* 12(7): 1483. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12071483>
- Wardhana DK, Haskito AEP, Purnama MT E, Safitri DA, Annisa S. 2021. Detection of microbial contamination in chicken meat from local markets in Surabaya, East Java, Indonesia. *Veterinary World* 14(12): 3138–3143. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.3138-3143>