

79826-274727-3-ed 79826-274727-3-ed

79826-274727-3-ED

-  Quick Submit
-  Quick Submit
-  Universitas Diponegoro

Document Details

Submission ID

trn:oid::1:3672699005

Submission Date

Oct 8, 2026, 9:58 AM GMT+7

Download Date

Oct 8, 2026, 10:11 AM GMT+7

File Name

2_79826-274727-3-ED.docx

File Size

104.7 KB

9 Pages**5,493 Words****35,262 Characters**

20% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Filtered from the Report

- Bibliography
- Quoted Text

Top Sources

- 18%  Internet sources
- 8%  Publications
- 4%  Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

Top Sources

- 18% Internet sources
- 8% Publications
- 4% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	Internet	123dok.com	3%
2	Internet	ejournal.undip.ac.id	3%
3	Internet	pdfcoffee.com	1%
4	Internet	id.scribd.com	1%
5	Internet	repository.unja.ac.id	<1%
6	Internet	repositori.uin-alauddin.ac.id	<1%
7	Student papers	Politeknik Kesehatan Kemenkes Semarang	<1%
8	Internet	docobook.com	<1%
9	Internet	ejournal.unsri.ac.id	<1%
10	Internet	journal.untar.ac.id	<1%
11	Internet	ejournal.undiksha.ac.id	<1%

12	Internet	eprints.uad.ac.id	<1%
13	Internet	es.scribd.com	<1%
14	Publication	Rohmah Widyaningrum, Muhammad Rifqi, Titi Rohmayanti. "Analisis Fisikokimia ...	<1%
15	Student papers	LL DIKTI IX Turnitin Consortium Part III	<1%
16	Publication	Wael I. Mortada, Ahmed A. Shokeir. "Does nitrite and nitrate levels in drinking wa...	<1%
17	Internet	ejournal.poltekkes-smg.ac.id	<1%
18	Internet	repository.poltekeskupang.ac.id	<1%
19	Internet	garuda.kemdikbud.go.id	<1%
20	Internet	jmk.stikesmitrakeluarga.ac.id	<1%
21	Internet	repository.uinsaizu.ac.id	<1%
22	Internet	aicei.uacs.edu.mk	<1%
23	Internet	docplayer.info	<1%
24	Internet	journal.lppm-unasman.ac.id	<1%
25	Internet	repositori.unsil.ac.id	<1%

26	Internet	www.infolabmed.com	<1%
27	Publication	Safa Kalteh, Farshad Hamidi, Mahdi Ahmadi Nasab, Narges Mohseni Gharibdoost...	<1%
28	Internet	sites.google.com	<1%
29	Publication	Euis Nurul Hidayah, Okik Hendriyanto Cahyonugroho, Gabriela Veronica. "SOSIAL...	<1%
30	Publication	Riswanda, Rahmawati Allyreza. "Sosialisasi dan Penyuluhan Undang-Undang No...	<1%
31	Publication	Vina Latuconsina, Filda De Lima. "GAMBARAN KUALITAS AIR MINUM ISI ULANG D...	<1%
32	Internet	archive.org	<1%
33	Internet	dergipark.org.tr	<1%
34	Internet	dspace.uui.ac.id	<1%
35	Internet	eprints.poltekkesjogja.ac.id	<1%
36	Internet	journal-center.litpam.com	<1%
37	Internet	jurnal.fkmumi.ac.id	<1%
38	Internet	jurnal.untan.ac.id	<1%
39	Internet	ppjp.ulm.ac.id	<1%

40	Internet	repository.unej.ac.id	<1%
41	Internet	worldwidescience.org	<1%
42	Internet	www.coursehero.com	<1%
43	Internet	www.mdpi.com	<1%
44	Internet	www.researchgate.net	<1%
45	Internet	www.scribd.com	<1%
46	Internet	zaharov.info	<1%
47	Publication	Audi Torry Ginting, Suhartomi Suhartomi, Fiska Maya Wardhani, Sri Amelia, Medi...	<1%
48	Publication	Dwi Novita, Isbandiyah I, Agus Susilo. "Perkembangan Kehidupan Sosial Ekonomi...	<1%
49	Publication	Elis Setyawati, Dewi Larasati, Sri Haryati. "PENGARUH LAMA WAKTU PENCELUPAN...	<1%
50	Publication	Liola Defitri, Zikri Alhadi. "Kinerja Dinas Kesehatan Kota Padang dalam Melakuka...	<1%
51	Internet	repository.its.ac.id	<1%



Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia

xx (x), 2021, .x-xx

DOI : 10.14710/jkli.xx.x. ...x-...xx



Pengaruh Tingkat Risiko Sanitasi Depot dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Nitrit dan Nitrat Pada Air Minum Isi Ulang

Nuryanto^{1)*}, Teguh Widiyanto², Suparmin³

^{1,2,3} Jurusan Kesehatan Lingkungan, Poltekkes Kemenkes Semarang

Info Artikel: Diterima ..bulan...201x ; Disetujui ...bulan 201x ; Publikasi ...bulan ..201x *tidak perlu diisi

ABSTRAK

Latar Belakang: Kadar nitrit dan nitrat pada Air Minum Isi Ulang (AMIU) di atas ambang batas yang dipersyaratkan dapat meningkatkan risiko gangguan kesehatan, terutama *methemoglobinemia*. Pengawasan risiko sanitasi depot dan praktik penyimpanan perlu mendapatkan perhatian, karena berpotensi memengaruhi kadar nitrit dan nitrat pada AMIU. Tujuan penelitian untuk menganalisis pengaruh tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan terhadap kadar nitrit dan nitrat pada AMIU.

Metode: Jenis penelitian ini adalah pre-eksperimen dengan design *One-Shot Case Study*. Populasi dalam penelitian ini adalah air minum pada Depot AMIU yang beroperasi di Kecamatan Baturraden, yaitu berjumlah 31 Depot. Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian air minum yang diambil pada Depot AMIU yang terpilih meliputi depot dengan risiko sanitasi rendah, sedang dan tinggi. Pengambilan sampel air minum dilakukan pada outlet di unit depot AMIU. Pengambilan sampel sebanyak 3 galon berukuran 19 liter pada setiap kriteria tingkat sanitasi depot. Pemeriksaan kadar nitrit dan nitrat pada sampel air minum dilakukan di Laboratorium Daerah Kabupaten Banyumas. Analisis data menggunakan uji statistik *two way anova*. Data disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

Hasil: Hasil pemeriksaan sampel AMIU menunjukkan bahwa nitrit dan nitrat memenuhi persyaratan Permenkes RI No, 2 tahun 2023 tentang kesehatan lingkungan. Terdapat pengaruh tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan terhadap kadar nitrit dan nitrat AMIU ($p\text{-value} \leq 0,05$). Tingkat risiko sanitasi dasar dan lama penyimpanan berinteraksi dalam memengaruhi kadar nitrit dan nitrat pada AMIU ($p\text{-value} \leq 0,05$). Tingkat risiko sanitasi depot yang tinggi dan semakin lama penyimpanan AMIU dapat meningkatkan kadar nitrit dan nitrat pada AMIU.

Simpulan: Tingkat risiko sanitasi dan lama penyimpanan tidak hanya berpengaruh secara terpisah, tetapi juga berinteraksi dalam memengaruhi kadar nitrit dan nitrat pada AMIU.

Kata kunci: Nitrit, Nitrat, AMIU, Risiko Sanitasi, Lama Penyimpanan

ABSTRACT

Title : The effect of Depot Sanitation Risk Level and Storage Duration on Nitrite and Nitrate Concentrations in Refillable Drinking Water

Background: Nitrite and nitrate levels in Refillable Drinking Water (RDW) that exceed the permissible limits may increase the risk of adverse health effects, particularly *methemoglobinemia*. Monitoring sanitation risk levels of drinking water depots and storage practices is important because these factors may affect nitrite and nitrate levels in RDW. The study aimed to analyze the effect of depot sanitation risk levels and storage time on nitrite and nitrate levels in RDW.

Methods: This type of research is pre-experimental using a *One-Shot Case Study* design. The population in this study is drinking water at the RDW Depot operating in Baturraden District, totaling 31 Depots. The sample in this study is some of the drinking water taken at the selected RDW Depots, including depots with low, medium and high sanitation risks. Drinking water sampling was carried out at the outlet at the RDW depot unit. Sampling of 3 gallons of 19 liters at each criterion of the depot sanitation level. Nitrite and nitrate levels in the drinking water samples were analyzed at the Banyumas Regency Regional Laboratory. Data analysis used a two-way anova statistical test. The data were presented in tables and narrative descriptions.

Results: The results of the RDW sample examination show that nitrites and nitrates meet the requirements of the Indonesian Minister of Health Regulation No. 2 of 2023 concerning environmental health. Depot sanitation risk levels and storage time significantly affected nitrite and nitrate levels in RDW ($p \leq 0.05$). The level of basic sanitation risk and storage time interacted in influencing nitrite and nitrate levels in the RDW ($p\text{-value} \leq 0.05$). The high level of depot sanitation risk and the longer the RDW is stored can increase the nitrite and nitrate levels in the RDW.

Conclusion: The level of sanitation risk and storage time are not only affected separately, but also interact in influencing nitrite and nitrate levels in RDW.

Keywords: Nitrite, Nitrate, Refill Drinking Water, Sanitation Risk, Storage Duration

PENDAHULUAN

Air minum adalah air yang telah diolah atau tidak, tetapi memenuhi persyaratan kesehatan mencakup parameter fisik, kimia, mikrobiologi, dan radioaktif sehingga aman untuk dikonsumsi secara langsung¹. Pemenuhan kebutuhan air minum di Indonesia bersumber dari berbagai pilihan, antara lain sistem perpipaan atau Perusahaan Air Minum (PAM), air minum dalam kemasan (AMDK), serta AMIU². Dalam beberapa tahun terakhir, masyarakat menunjukkan kecenderungan lebih memilih AMDK dan AMIU karena alasan kepraktisan dan persepsi higienitas. Data Badan Pusat Statistik (BPS) menunjukkan bahwa penggunaan AMDK dan AMIU sebagai sumber air minum meningkat sebesar 1,37% pada periode 2021–2023, yaitu dari 39,72% pada tahun 2021 menjadi 40,64% pada tahun 2023^{3,4}. AMDK dinilai lebih higienis karena diproses secara otomatis dan melalui pengujian kualitas air sebelum dipasarkan. Namun, harga AMDK yang relatif tinggi membuat AMIU menjadi alternatif yang lebih terjangkau bagi masyarakat^{5,6}.

Air minum isi ulang merupakan salah satu jenis air minum siap konsumsi yang tidak memerlukan proses perebusan karena telah melalui tahap pemurnian, seperti penyinaran ultraviolet, ozonisasi, atau kombinasi keduanya. Pemilihan AMIU untuk kebutuhan air minum masyarakat karena praktis, efisien, lebih terjangkau, dan mudah diakses karena ketersediaan yang luas serta lokasi yang dekat dengan permukiman^{5,7}. Sejalan dengan meningkatnya kebutuhan tersebut, jumlah depot AMIU mengalami pertumbuhan yang sangat pesat. Berdasarkan Profil Kesehatan Indonesia tahun 2020 hingga 2023, jumlah depot AMIU secara nasional meningkat sebesar 101,9%, dari 27.755 unit pada tahun 2020 menjadi 56.045 unit pada tahun 2023. Namun, tren berbeda terlihat di Provinsi Jawa Tengah yang justru mengalami penurunan sebesar 28,9%, yaitu dari 3.694 unit pada tahun 2020 menjadi 2.627 unit pada tahun 2023^{8,9}. Laporan Dinas Kesehatan Kabupaten Banyumas menunjukkan adanya peningkatan sebesar 4,2%, dari 478 unit pada tahun 2020 menjadi 498 unit pada tahun 2023^{10,11}.

Air minum isi ulang berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan apabila kualitasnya tidak memenuhi standar yang ditetapkan pemerintah. Beberapa penelitian di berbagai daerah, seperti Kabupaten Ogan Ilir dan Kota Makassar, menemukan bahwa sebagian sampel AMIU telah tercemar *Escherichia coli*^{12,13}. Selain kontaminasi mikrobiologis, penelitian lain juga melaporkan adanya cemaran kimia, terutama nitrit (NO_2^-) dan nitrat (NO_3^-), baik pada air baku maupun AMIU^{2,14}. Kedua senyawa tersebut merupakan parameter wajib air minum dengan ambang batas masing-masing 3 mg/L dan 20 mg/L¹. Kontaminasi nitrit dan nitrat biasanya berasal dari air tanah atau air permukaan yang terpapar pupuk nitrogen serta dekomposisi limbah organik oleh mikroorganisme, di mana nitrogen akan diubah menjadi amonia dan selanjutnya mengalami oksidasi menjadi nitrit dan nitrat^{14,15}.

Konsumsi air yang terkontaminasi nitrit dan nitrat melebihi baku mutu dapat menyebabkan efek kesehatan serius, seperti gangguan hematologis berupa *methemoglobinemia* atau *blue baby syndrome*, yaitu kondisi ketika hemoglobin teroksidasi menjadi methemoglobin sehingga kemampuan darah mengikat oksigen menurun¹⁵. Bayi berusia kurang dari enam bulan merupakan kelompok paling rentan, karena paparan nitrat yang tinggi dapat memicu sianosis, hipoksemia, bahkan kematian neonatal^{16,17}. Untuk menjamin keamanan konsumen tersebut, maka pengawasan kualitas AMIU perlu dilakukan secara rutin. Meskipun demikian, berdasarkan hasil pengawasan depot AMIU di wilayah Kecamatan Baturraden, Kabupaten Banyumas, belum berjalan optimal. Hasil pengawasan menunjukkan beberapa depot belum melaksanakan pemeriksaan kualitas air sesuai ketentuan, yaitu uji parameter lengkap setiap satu tahun dan pemeriksaan bakteriologi setiap tiga bulan. Kendala utama yang ditemukan adalah rendahnya kesadaran pemilik depot untuk melakukan pemeriksaan laboratorium secara menyeluruh karena biaya yang dianggap cukup tinggi^{18,19}.

Sejumlah studi melaporkan bahwa AMIU di berbagai daerah tercemar nitrit dan nitrat^{20,21}. Kontaminasi tersebut berasal dari air baku yang tercemar, proses pengolahan yang tidak optimal, maupun lama penyimpanan air setelah diterima konsumen. Meskipun demikian, masih terdapat *research gap* yaitu terbatasnya bukti terkait pengaruh tingkat risiko sanitasi dan lama penyimpanan terhadap kadar nitrit dan nitrat pada AMIU. Penelitian sebelumnya umumnya mengkaji tentang kadar nitrit dan nitrat berdasarkan kualitas fisik dan kimia air, sedangkan penelitian mengenai lama penyimpanan dikaitkan dengan aspek mikrobiologis pada AMIU. Belum terdapat penelitian yang mengintegrasikan tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan sebagai faktor yang secara simultan berpotensi memengaruhi kadar nitrit dan nitrat pada AMIU. Kondisi tersebut menjadi penting untuk dikaji karena AMIU merupakan sumber air minum yang langsung dikonsumsi oleh masyarakat, sehingga perubahan kadar nitrit dan nitrat pada tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan yang berbeda berpotensi

memengaruhi tingkat paparan dan risiko kesehatan pada konsumen. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh tingkat risiko sanitasi dan lama penyimpanan terhadap kadar nitrit dan nitrat pada AMIU.

MATERI DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah pre-eksperimen dengan desain *One-Shot Case Study*. Tujuan penelitian adalah untuk menganalisis pengaruh tingkat risiko sanitasi depot (rendah, sedang, dan tinggi) serta lama penyimpanan AMIU (0, 3 dan 7 hari) terhadap kadar zat organik (nitrat dan nitrit). Populasi dalam penelitian ini adalah air minum pada Depot AMIU yang beroperasi di Kecamatan Baturaden, yaitu sebanyak 31 depot. Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian air minum yang diambil dari depot AMIU terpilih. Pemilihan depot AMIU menggunakan *purposive sampling*, yaitu berdasarkan pertimbangan kriteria tingkat risiko sanitasi depot. Jumlah depot terpilih meliputi risiko sanitasi rendah, sedang dan tinggi berdasarkan hasil inspeksi sesuai standar pengawasan sanitasi depot berbasis risiko. Penilaian kriteria tingkat risiko sanitasi depot rendah jika nilai ≥ 80 , sedang jika 60-79 dan tinggi jika < 60 .

Pengambilan sampel air minum dilakukan pada outlet di unit depot AMIU. Pengambilan sampel sebanyak 3 galon berukuran 19 liter pada setiap kriteria tingkat sanitasi depot. Selanjutnya sampel disimpan pada suhu ruang di Laboratorium Terpadu Poltekkes Kemenkes Semarang Kampus 7 Purwokerto. Kemudian pengambilan sampel air minum sebanyak 1 liter pada masing-masing kriteria tingkat risiko sanitasi depot (rendah, sedang dan tinggi) pada lama penyimpanan (0, 3 dan 7 hari). Pemeriksaan kadar nitrat dan nitrit pada sampel air minum dilakukan di Laboratorium Daerah Kabupaten Banyumas. Hasil pemeriksaan kadar nitrit dan nitrat dibandingkan dengan standar baku mutu kesehatan lingkungan sesuai dengan Permenkes RI Nomor 2 Tahun 2023 tentang kesehatan lingkungan yaitu 3 mg/L untuk nitrit dan 20 mg/L untuk nitrat. Analisis data menggunakan uji statistik *two way anova*. Data disajikan dalam bentuk tabel dan narasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kondisi Umum Kecamatan Baturaden

Secara Geografis, Kecamatan Baturaden terletak di sebelah utara Ibukota Kabupaten Banyumas, yaitu sekitar 7,5 km arah utara Kota Purwokerto. Batas wilayah kecamatan Baturaden mulai dari arah selatan, barat, timur, dan utara yaitu Kecamatan Purwokerto Utara, Kecamatan Kedung Banteng, Kecamatan Sumbang dan Kabupaten Tegal. Kecamatan Baturaden terbagi menjadi 12 Desa meliputi Ketenger, Karangmangu, Kemutug Lor, Kemutug Kidul, Karangsalam, Karangtengah, Kebumen, Rempoah, Pamijen, Pandak, Kutasari dan Purbasari.

Jumlah penduduk Kecamatan Baturaden pada akhir tahun 2023 berdasarkan catatan Dinas Kependudukan dan Pencatatan Sipil Kabupaten Banyumas sebanyak 55.894 jiwa dengan jumlah penduduk laki-laki sebanyak 28.023 jiwa dan penduduk perempuan sebanyak 27.871. Desa dengan jumlah penduduk terbanyak dan jumlah keluarga terbanyak adalah Desa Rempoah dengan jumlah penduduk sebanyak 8.675 jiwa dan jumlah keluarga sebanyak 18.787 keluarga. Sedangkan penduduk desa paling sedikit terdapat di Desa Karangsalam Lor dengan jumlah penduduk sebanyak 2.630 jiwa dengan jumlah keluarga sebanyak 893 keluarga.

Depot Air Minum Isi Ulang

Saat ini, AMIU menjadi pilihan utama masyarakat dalam penyediaan air minum di Kecamatan Baturaden karena praktis dan murah. Laporan Puskesmas Baturaden I dan II tahun 2023 menyebutkan bahwa Depot AMIU di Kecamatan Baturaden sebanyak 30 unit yang meliputi 19 unit (63,3%) di Wilayah Puskesmas Baturaden I dan 11 unit (36,7%) di Baturaden II^{18, 22}. Tingginya minat masyarakat untuk kebutuhan air minum menggunakan AMIU, perlu mendapatkan pengawasan kesehatan lingkungan dari pemerintah mengingat potensi penularan penyakit akibat konsumsi AMIU dapat terjadi jika tingkat risiko sanitasi Depot AMIU tergolong tinggi. Salah satu pengawasan kesehatan lingkungan dapat dilakukan melalui upaya sanitasi^{19, 23, 24}.

Pengawasan sanitasi Depot AMIU adalah serangkaian kegiatan yang dilakukan untuk memastikan bahwa Depot AMIU memenuhi standar kebersihan dan kualitas air yang aman untuk dikonsumsi. Pengawasan ini mencakup inspeksi rutin, pemantauan kualitas air, dan evaluasi terhadap kepatuhan depot terhadap regulasi kesehatan. Tujuan pengawasan sanitasi Depot AMIU adalah untuk menjamin kualitas air minum yang aman dan higienis bagi masyarakat. Dengan pengelolaan yang baik, serta kepatuhan terhadap regulasi kesehatan, Depot AMIU dapat beroperasi secara aman dan bertanggung jawab sehingga masyarakat dapat terlindungi dari penyakit akibat mengonsumsi AMIU.

Kadar Nitrit dan Nitrat

Tabel. 1. Distribusi Kadar Nitrit dan Nitrat pada AMIU Berdasarkan Tingkat Risiko Sanitasi Depot

dan Lama penyimpanan di Kecamatan Baturraden

Paremeter	Tingkat Risiko Sanitasi Depot	Lama penyimpanan	N	Mean	Min-Max	SD
Nitrit	Rendah	0 hari	3	0,001	0,001-0,001	0,000
		3 hari	3	0,001	0,001-0,001	0,000
		7 hari	3	0,002	0,001-0,003	0,001
	Sedang	0 hari	3	0,001	0,001-0,001	0,000
		3 hari	3	0,001	0,001-0,001	0,000
		7 hari	3	0,002	0,001-0,003	0,001
	Tinggi	0 hari	3	0,001	0,001-0,001	0,000
		3 hari	3	0,001	0,001-0,001	0,000
		7 hari	3	0,005	0,004-0,006	0,001
Nitrat	Rendah	0 hari	3	0,570	0,22-1,25	0,110
		3 hari	3	1,800	1,60-2,00	0,200
		7 hari	3	7,433	6,30-8,20	1,001
	Sedang	0 hari	3	0,923	0,27-1,26	0,566
		3 hari	3	4,333	3,70-4,80	0,568
		7 hari	3	14,000	12,0-16,0	2,000
	Tinggi	0 hari	3	1,146	1,02-1,22	0,589
		3 hari	3	14,000	12,0-16,0	2,000
		7 hari	3	16,000	15,0-17,0	1,000

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar nitrit dan nitrat pada air minum isi ulang (AMIU) bervariasi secara signifikan berdasarkan tingkat risiko sanitasi depot (rendah, sedang, dan tinggi) dan lama penyimpanan (0 hari, 3 hari, dan 7 hari). Hasil pemeriksaan kadar nitrit dan nitrat masih dibawah ambang batas yang dipersyaratkan¹. Pada depot dengan tingkat risiko sanitasi rendah dan sedang, kadar nitrit relatif stabil, yakni meningkat dari 0,001 mg/L pada hari ke-0 menjadi 0,002 mg/L pada hari ke-7. Sebaliknya, pada depot dengan tingkat risiko sanitasi tinggi, peningkatan kadar nitrit lebih jelas terlihat, dari 0,001 mg/L pada hari ke-0 menjadi 0,005 mg/L pada hari ke-7. Pola yang sama juga terlihat pada kadar nitrat.

Pada depot dengan risiko sanitasi rendah, kadar nitrat meningkat dari 0,570 mg/L pada hari ke-0 menjadi 7,433 mg/L pada hari ke-7. Kenaikan yang lebih tajam ditemukan pada depot dengan risiko sanitasi sedang, yaitu dari 0,923 mg/L menjadi 14,000 mg/L pada hari ke-7. Sementara itu, pada depot dengan risiko sanitasi tinggi, kadar nitrat meningkat dari 1,146 mg/L pada hari ke-0 menjadi 6,000 mg/L pada hari ke-7. Temuan hasil penelitian ini menunjukkan bahwa baik nitrit maupun nitrat cenderung meningkat seiring dengan tingginya risiko sanitasi depot dan lamanya penyimpanan air, meskipun nilainya masih berada dalam kisaran aman yang dipersyaratkan. Temuan tersebut menunjukkan bahwa baik nitrit maupun nitrat cenderung meningkat seiring dengan tingginya risiko sanitasi depot dan lamanya penyimpanan air.

Pada depot dengan tingkat risiko sanitasi tinggi berpotensi masih terdapat sisa bahan organik, biofilm dan mikroorganisme yang tidak tereliminasi sempurna selama proses pengolahan maupun pencucian galon. Kondisi tersebut menjadi substrat yang baik bagi bakteri nitrifikasi seperti *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* untuk mengonversi amonia menjadi nitrit dan selanjutnya menjadi nitrat, bahkan dalam konsentrasi yang sangat rendah dapat menyebabkan kenaikan kadar nitrogen anorganik dalam air minum^{12, 25, 26}. Dengan demikian, depot dengan tingkat risiko sanitasi tinggi, rentan terhadap masuknya bahan organik serta aktivitas mikroba yang dapat meningkatkan pembentukan nitrit dan nitrat²⁷.

Selain itu, penyimpanan air dalam wadah plastik yang digunakan berulang kali dapat memperkuat proses tersebut, karena permukaan galon yang sudah lama cenderung memiliki pori halus yang memudahkan pembentukan biofilm, yang berfungsi sebagai habitat mikroorganisme²⁸. Semakin lama air disimpan, semakin besar peluang terjadinya akumulasi nitrit dan nitrat akibat interaksi antara aktivitas mikroba dan faktor fisik-kimia seperti suhu ruang, oksigen terlarut, dan migrasi komponen biofilm dari kemasan yang terbuat dari plastik^{29, 30}. Temuan dalam penelitian ini menjadi indikator penting bahwa tingkat risiko sanitasi depot dan durasi penyimpanan merupakan faktor yang perlu dikendalikan untuk mencegah akumulasi nitrit dan nitrat yang dapat meningkat secara signifikan dalam kondisi yang tidak terkontrol²⁷.

Pengaruh tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan terhadap kadar nitrat dan nitrit pada AMIU

Tabel 3. Hasil Analisis Uji Statistik Pengaruh Tingkat Sanitasi Depot dan Lama Penyimpanan Terhadap Kadar Nitrat dan Nitrit

Source of Variation	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig
---------------------	-------------------------	----	-------------	---	-----

Kadar Nitrit

Risiko Sanitasi	6.741E-6	2	3.370E-6	9.100	0,002*
Lama Penyimpanan	2.141E-5	2	1.070E-5	28.900	0,000*
Risiko sanitasi*lama penyimpanan	1.348E-5	4	3.370E-6	9.100	0,000*

Kadar Nitrat

Risiko Sanitasi	204,808	2	102,404	83,437	0,000*
Lama Penyimpanan	605,294	2	302,647	246,591	0,000*
Risiko sanitasi*lama penyimpanan	164,911	4	41,228	33,591	0,000*

Hasil analisis menggunakan *uji two anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar nitrit dan nitrat berdasarkan tingkat risiko sanitasi depot AMIU ($p\text{-value} \leq 0,05$) dan terdapat perbedaan kadar nitrit dan nitrat berdasarkan lama penyimpanan ($p\text{-value} \leq 0,05$) serta terdapat interaksi tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan dengan kadar nitrit dan nitrat ($p\text{-value} \geq 0,05$). Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar nitrat dan nitrit berbeda secara signifikan berdasarkan tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan, serta terdapat interaksi di antara keduanya. Berdasarkan hal tersebut, tingkat risiko sanitasi depot air minum dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap kadar nitrit dan nitrat pada AMIU. Hasil penelitian sejenis menunjukkan bahwa tingkat sanitasi depot dan lama penyimpanan berpengaruh terhadap kadar nitrit dan nitrat pada AMIU³¹.

Depot dengan tingkat risiko sanitasi tinggi umumnya memiliki kelemahan pada aspek kebersihan peralatan, proses produksi, pencucian galon, serta kualitas air baku yang tidak terstandar. Kondisi tersebut berpotensi adanya kontaminasi bahan organik dan mikroorganisme yang berdampak pada meningkatnya kandungan nitrit dan nitrat dalam air minum. Sedangkan semakin lama air minum disimpan, terutama pada suhu ruang dan dalam wadah yang tidak sepenuhnya steril, maka semakin besar peluang terjadinya aktivitas mikroorganisme nitrifikasi. Proses nitrifikasi adalah rangkaian oksidasi biologis yang melibatkan dua kelompok bakteri utama, yaitu *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* yang mengubah amonia menjadi nitrit dan nitrat melalui proses oksidasi berantai³².

Hasil analisis menunjukkan adanya interaksi positif antara tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan terhadap kenaikan kadar nitrit dan nitrat pada AMIU. Artinya, peningkatan nitrit dan nitrat yang terjadi selama penyimpanan jauh lebih besar pada depot dengan tingkat risiko sanitasi tinggi dibanding yang tingkat risiko sanitasinya rendah. Interaksi tersebut menunjukkan efek lama penyimpanan pada kadar nitrit dan nitrat bergantung pada kondisi tingkat sanitasi depot. Ketika kondisi tingkat risiko sanitasi depot yang tinggi dan semakin lama penyimpanan air minum maka dapat mendukung proses biologis dan kimiawi yang mengubah nitrogen menjadi nitrit dan nitrat menjadi lebih besar dibanding depot yang memiliki risiko sanitasi rendah. Interaksi antara faktor lingkungan seperti sanitasi dan lama penyimpanan dapat mempercepat degradasi kualitas air dan meningkatkan kandungan kontaminan kimia, termasuk nitrit dan nitrat, hingga beberapa kali lipat dibanding pengaruh masing-masing faktor secara terpisah³³.

Wadah air yang mengandung residu organik atau biofilm pada dinding bagian dalam lebih rentan menjadi media nitrifikasi, terutama selama penyimpanan lebih dari dua hingga tiga hari^{29, 34, 35}. Kondisi ini semakin diperburuk pada depot dengan tingkat risiko sanitasi tinggi, di mana praktik pencucian galon yang tidak memadai memudahkan terbentuknya biofilm dan memungkinkan mikroorganisme bertahan di dalam wadah. Mikroorganisme tersebut kemudian dapat berkembang biak dengan cepat selama proses penyimpanan, sehingga memperkuat aktivitas biologis yang mendorong peningkatan nitrit dan nitrat dalam AMIU^{36, 37}.

Tabel 8. Hasil Analisis Uji LSD Kadar Nitrat dan Nitrit Berdasarkan Tingkat Risiko Sanitasi Depot dan Lama Penyimpanan

Variabel		Mean Difference	Standar Error	Sig	95% CI	
					Lower Bound	Upper Bound
Nitrit						
Tingkat Risiko Sanitasi						
Rendah	Sedang	-0,00011	0,000287	0,703	-0,00071	0,00049
	Tinggi	-0,00111	0,000287	0,001*	-0,00171	-0,00051
Sedang	Rendah	0,00011	0,000287	0,703	-0,00049	0,00071
	Tinggi	-0,00100	0,000287	0,003*	-0,00160	-0,00040
Tinggi	Rendah	0,00111	0,000287	0,001*	0,00051	0,00171
	Sedang	0,00100	0,000287	0,003*	0,00040	0,00160
Lama Penyimpanan						
0 Hari	3 Hari	-5,8311	0,000287	1,000	-0,00060	0,00060
	7 Hari	-11,5978	0,000287	0,000*	-0,00249	-0,00129
3 Hari	0 Hari	5,8311	0,000287	1,000	-0,00060	0,00060
	7 Hari	-5,7667	0,000287	0,000*	-0,00249	-0,00129
7 Hari	0 Hari	11,5978	0,000287	0,000*	0,00129	0,00249
	3 Hari	5,7667	0,000287	0,000*	0,00129	0,00249

Pada kadar nitrat, perbedaan yang konsisten pada seluruh kategori lama penyimpanan menunjukkan bahwa semakin lama air minum isi ulang disimpan, semakin besar kecenderungan terjadinya peningkatan nitrat. Kadar nitrat pada hari ke-0 masih mencerminkan kondisi air saat baru diproduksi, namun pada hari ke-3 dan terutama hari ke-7, proses oksidasi nitrogen semakin jelas terlihat. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa air minum

yang disimpan lebih dari 48 jam rentan mengalami peningkatan nitrogen anorganik karena interaksi faktor biologis dan kimiawi, terutama bila masih terdapat residu nitrogen organik dalam air ⁴¹.

Dengan demikian, hasil LSD dalam penelitian ini memperkuat konsep bahwa AMIU sebaiknya dikonsumsi segera setelah dibeli, karena penyimpanan yang terlalu lama dapat menyebabkan perubahan komposisi kimia yang tidak diinginkan. *World Health Organization* menekankan bahwa kestabilan nitrit dan nitrat dalam air tidak selalu terjamin selama penyimpanan, terutama pada air yang diproduksi oleh fasilitas dengan kontrol sanitasi yang tidak ketat ²⁷. Oleh karena itu, temuan ini menekankan pentingnya edukasi kepada konsumen untuk tidak menyimpan AMIU terlalu lama dan menjaga kondisi penyimpanan tetap higienis.

Keterbaruan penelitian

Keterbaruan penelitian adalah adanya interaksi antara tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan terhadap kadar nitrit dan nitrat pada AMIU. Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang umumnya hanya mengkaji kualitas nitrit dan nitrat berdasarkan kondisi kualitas air (fisik dan kimia) atau pengaruh lama penyimpanan secara terpisah. Pada penelitian ini, tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan AMIU diintegrasikan dalam satu model analisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tingkat risiko sanitasi dan lama penyimpanan tidak hanya berpengaruh secara terpisah, tetapi juga saling berinteraksi dalam memengaruhi kadar nitrit dan nitrat pada AMIU. Dengan demikian, perubahan kadar nitrit dan nitrat pada AMIU tersebut tidak hanya ditentukan oleh tingkat risiko sanitasi depot saja, tetapi juga dapat dipengaruhi oleh lama penyimpanan AMIU. Artinya, tingkat risiko sanitasi depot dengan kriteria tinggi dan durasi penyimpanan yang lebih lama berpotensi meningkatkan kadar nitrit dan nitrat pada AMIU, atau sebaliknya. Hasil temuan dapat memberikan pemahaman terkait pengendalian kadar nitrit dan nitrat pada AMIU yang perlu dilakukan secara terintegrasi dengan memperhatikan tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan AMIU.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Terdapat pengaruh tingkat risiko sanitasi depot dan lama penyimpanan terhadap kadar nitrit dan nitrat AMIU. Tingkat risiko sanitasi dasar dan lama penyimpanan saling berinteraksi dalam memengaruhi kadar nitrit dan nitrat pada AMIU, artinya bahwa tingkat risiko sanitasi dan lama penyimpanan tidak hanya berpengaruh secara terpisah, tetapi saling berinteraksi dalam memengaruhi kadar nitrit dan nitrat pada AMIU.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, disarankan untuk pemilik depot AMIU supaya meningkatkan higiene sanitasi secara menyeluruh, terutama pada proses pencucian galon, kebersihan peralatan, serta pemeliharaan unit pengolahan air untuk mengurangi potensi peningkatan kadar nitrat dan nitrit selama penyimpanan. Pemilik depot juga perlu memastikan bahwa air olahan tidak disimpan terlalu lama dan mendistribusikan air kepada konsumen dalam waktu tidak lebih dari 48 jam, sesuai prinsip keamanan air minum. Selain itu, monitoring kualitas air baik secara mikrobiologi maupun kimia, termasuk kadar nitrat dan nitrit, perlu dilakukan secara berkala sebagai bagian dari pemenuhan standar Permenkes RI Nomor 2 Tahun 2023 tentang Kesehatan lingkungan. Pelatihan rutin bagi operator depot mengenai sanitasi, penyimpanan aman, dan manajemen risiko kualitas air juga sangat dianjurkan. Untuk konsumen disarankan memilih depot air minum yang memiliki standar sanitasi baik dan terdaftar pada Dinas Kesehatan. Konsumen sebaiknya menyimpan air minum isi ulang dalam kondisi tertutup, tidak terpapar panas atau sinar matahari, serta menghabiskan air dalam jangka waktu tidak lebih dari tiga hari agar tidak terjadi peningkatan kadar nitrat maupun nitrit akibat proses biologis selama penyimpanan. Konsumen juga perlu memperhatikan kebersihan galon pribadi sebelum dibawa ke depot, karena kondisi wadah yang tidak higienis dapat memperburuk kualitas air yang diterima. Dengan menerapkan langkah-langkah tersebut, risiko peningkatan nitrat dan nitrit selama penyimpanan dapat diminimalkan, sehingga kualitas dan keamanan air minum tetap terjaga.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kemenkes RI. Peraturan Menteri Kesehatan No 2 Tahun 2023 tentang kesehatan lingkungan. Jakarta: Kemenkes RI; 2023.
2. Mairizki F. Analisa Kualitas Air Minum Isi Ulang Di Sekitar Kampus Universitas Islam Riau. Jurnal Katalisator. 2017;2(1):9. <https://doi.org/10.22216/jk.v2i1.1585>.
3. BPS. Distribusi Persentase Rumah Tangga Menurut Provinsi dan Sumber Air Minum Tahun 2020 [Internet]. [cited 2024 Oct 15]. Available from: <https://www.bps.go.id/id/statistics-table/3/YzBaMlduSIFvbtVTrUnpWeU9YRTJka0pVTTFkU1FUMDkJMw==/distribusi-persentase-rumah-tangga-menurut-provinsi-dan-sumber-air-minum--2023.html?year=2020>.

4. BPS. Distribusi Persentase Rumah Tangga Menurut Provinsi dan Sumber Air Minum Tahun 2023 [Internet]. [cited 2024 Oct 15]. Available from: <https://www.bps.go.id/id/statistics/table/3/YzBaMlduSIFVbTVrUnpWeU9YRTJka0pVTTFkU1FUMDkjMw==/distribusi-persentase-rumah-tangga-menurut-provinsi-da5>.
5. Triwuri NA, Prasadi O, Hazimah. Uji Kualitas Air Minum Isi Ulang Berdasarkan Mineral Mikro. *Jurnal Teknik Ibnu Sina*. 2020;5(1):31–6. <https://doi.org/10.36352/JT-IBSI.V5I01.70>
6. Kesumaningrum F, Ismayanti NA, Muhaimin M. Analisis Kadar Logam Fe, Cr, Cd dan Pb dalam Air Minum Isi Ulang Di Lingkungan Sekitar Kampus Universitas Islam Indonesia Yogyakarta Menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA). *IJCA (Indonesian Indonesia Journal Chemical Analysis)*. 2019;2(01):41–6. <https://doi.org/10.20885/ijca.vol2.iss1.art6>
7. Syahril M, Nyorong M, Aini N. Pelaksanaan Hygiene Dan Sanitasi Pada Depot Air Minum Isi Ulang. *J Kesmas Prima Indones*. 2022;2(1):46–53. <https://doi.org/10.34012/jkpi.v2i1.895>.
8. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia.. Jakarta: Kemenkes RI; 2020
9. Kemenkes RI. Profil Kesehatan Indonesia.. Jakarta: Kemenkes RI; 2023.
10. Dinkes Kab. Banyumas. Profil Kesehatan Kab. Banyumas Tahun 2020. Banyumas: Pemerintah Kab. Banyumas; 2020.
11. Dinkes Kab. Banyumas. Profil Kesehatan Kab. Banyumas Tahun 2023. Banyumas: Pemerintah Kab. Banyumas; 2023.
12. Trisnaini I, Sunarsih E, Septiawati D. Analisis Faktor Risiko Kualitas Bakteriologis Air Minum Isi Ulang Di Kabupaten Ogan Ilir. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*. 2018;9(1):28–40. <https://doi.org/10.26553/jikm.2018.9.1.28-40>.
13. Puspitasari A, Hikmah B N, Rahman H. Study of Bacteriological Quality of Refill Drinking Water Depot in the Working Area of Tamangapa Public Health Center, Makassar City. *Window of Public Health Journal*. 2020;1(1):16–2. <https://doi.org/10.33096/woph.vi.28>
14. Puspitarini R, Ismawati R. Kualitas Air Baku Untuk Depot Air Minum Air Isi Ulang (Studi Kasus Di Depot Air Minum Isi Ulang Angke Tambora). *DAMPAK: Jurnal Teknik Lingkungan Universitas Andalas*. 2022;19(1):1. <https://doi.org/10.25077/dampak.19.1.1-7.2022>.
15. Ardhaneswari M, Wispriyono B. Analisis Risiko Kesehatan Akibat Paparan Senyawa Nitrat dan Nitrit Pada Air Tanah di Desa Cihambulu Subang. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*. 2022;21(1):65–72. <https://doi.org/10.14710/jkli.21.1.65-72>.
16. Manassaram DM, Backer LC, Messing R, Fleming LE, Luke B, Monteilh CP. Nitrates in drinking water and methemoglobin levels in pregnancy: a longitudinal study. *Environmental Health*. 2010;9(1):1–12. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-9-60>.
17. Oftadeh BZG, Sany SBT, Alidadi H, Saghi M, Tafaghodi M, Shamszadeh SH, et al. Health Risk Assessment of Nitrite and Nitrate in the Drinking Water in Mashhad. 2019;7(1):58–67. <https://doi.org/10.22038/jnfh.2019.38879.1181>.
18. Puskesmas Baturraden I. Profil Puskesmas Baturraden I. Banyumas; Puskesmas Baturraden I: 2023.
19. Nuryanto N, Ma'aruf F, Purnomo BC. Analisis Kualitas Proses Layanan Kesehatan Lingkungan Dengan Pendekatan Quality Improvement Process (QIP). *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*. 2024;23(2):215–25. <https://doi.org/10.14710/jkli.23.2.215-225>.
20. Rosita N. Analisis Kualitas Air Minum Isi Ulang Beberapa Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) di Tangerang Selatan. *Jurnal Kimia Valensi*. 2014;4(2):134–141. <https://doi.org/10.15408/jkv.v0i0.3611>.
21. Widiyanto T, Nuryanto N, Suparmin S. Kadar Nitrat dan Nitrit Pada Air Minum Isi Ulang (AMIU). *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*. 2025;24(2):163–70. <https://doi.org/10.14710/jkli.67995>.
22. Puskesmas Baturraden II. Profil Puskesmas Baturraden II. Banyumas; Puskesmas Baturraden I: 2023.
23. Nuryanto N, Lukmitarani R, Nuur B, Utami P. Evaluasi Sistem Informasi Kesehatan Lingkungan Menggunakan Model CIPP. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*. 2024;23(3):362–73. <https://doi.org/10.14710/jkli.23.3.362-373>.
24. Nuryanto, Widiyanto T, Suparmin, Fauzan Ma'ruf. Faktor Penentu Tingkat Risiko Sanitasi Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU). *Buletin Keslingmas*. 2025;17–23. <https://doi.org/10.31983/keslingmas.v44i1.12823>.
25. Liu G, Zhang Y, Knibbe W jan, Feng C, Liu W. Potential impacts of changing supply-water quality on drinking water distribution: A review. *Water Research*. 2017;116:135–48. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.03.031>
26. Kumalasari I, Puspita W, Ramadanti G, A AAP. Higiene Sanitasi Depot Air Minum Isi Ulang Surveilans Kesehatan Lingkungan di Wilayah Kerja Puskesmas Punti Kayu Palembang. *Diagnosa: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Keperawatan*. 2025;3(3):163–171. <https://doi.org/10.59581/diagnosa-widyakarya.v3i3.5401>
27. WHO. Guidelines for. Fourth. Geneva: WHO; 2022.
28. Burkowska-But A, Kalwasin'ska A, Brzezinsk MS. Bacterial growth and bio fi lm formation in household-stored groundwater collected from public wells. *Journal of Water and Health*. 2015;13(2):353–361. <https://doi.org/10.2166/wh.2014.097>

29. Charles KJ, Nowicki, Saskia, Bartram JK. A framework for monitoring the safety of water services : from measurements to security. 2020;(36):1–6. <https://doi.org/10.1038/s41545-020-00083-1>.
30. Liu W, Yang H. Performance Analysis of Partial Nitrification Fillers under Different Ammonia Concentration and Dissolved Oxygen Conditions. Open Access Library Journal. 2025;(12):1-19. <https://doi.org/10.4236/oalib.1113168>.
31. Jawad HJ, Kadhum NH, Abdul-hassan SS. The effect of the reverse osmosis bottled water storage on its bacteriological , chemical and physical properties. Iranian Journal of Ichthyology. 2022;(1):11–9. <https://ijichthyol.org/index.php/iji/article/view/10022-2>.
32. Surtanto T, Rahman MA, Kunci K. Peranan Bakteri Nitrobacter dan Nitrosomonas untuk Penambah Unsur Hara N, P, K pada Kompos Kotoran Sapi. 2021;15(1):45–50. https://journal.poltekwcwe.ac.id/index.php/jurnal_citrawidyaedukasi/article/view/293.
33. Ward MH, Id RRJ, Brender JD, Kok TM De, Weyer PJ, Nolan BT, et al. Drinking Water Nitrate and Human Health : An Updated Review. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2018;15(1557):1–31. <https://doi.org/10.3390/ijerph15071557>
34. Shahryari A, Smith CD, Amini A. Degradation of Bacterial Water Quality in Drinking Water after Bottling. The Open Microbiology Journal. : 2020;(14):78–83. DOI: <https://doi.org/10.2174/1874285802014010078>.
35. WHO. Nitrate and Nitrite in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva: WHO; 2016.
36. Hossain S, Chow CWK, Cook D, Sawade E, Hewa GA. Review of Nitrification Monitoring and Control Strategies in Drinking Water System. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2022;19(4003):1-31. <https://doi.org/10.3390/ijerph19074003>.
37. White CP, Debry RW, Lytle DA. Microbial Survey of a Full-Scale, Biologically Active Filter for Treatment of Drinking Water. Applied and Environmental Microbiology. 2012;78(17):6390–6394. <https://doi.org/10.1128/AEM.00308-12>
38. EFA. Drinking Water Health Advisories (HAs) [Internet]. EFA. 2022 [cited 2025 Nov 12]. Available from: <https://www.epa.gov/sdwa/drinking-water-health-advisories-has#health>.
39. Schullehner J, Stayner L, Hansen B. Nitrate, Nitrite, and Ammonium Variability in Drinking Water Distribution Systems. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2017;14(276):1–9. <https://doi.org/10.3390/ijerph14030276>
40. Chen Y, Zhao X, Sun S. (2021). Dynamics of nitrogen species during storage of treated drinking water. , 93(7),. Water Environmental Research. 2021;93(7):1278–1289. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/wer.1578>.
41. Ekanayake AN, Gunawardana W, Weerasooriya R. Potential Risks Associated with the Growth of Nitrifying Bacteria in Drinking Water Distribution Lines and Storage Tanks : A Systematic Literature Review. Bacteria. 2025;4(33):1–24. <https://doi.org/10.3390/bacteria4030033>.