

IDENTIFIKASI BAKTERI *Eschericia coli* SEROTIPE O157 DENGAN MEDIA SORBITOL MAC CONKEY AGAR (SMAC) PADA BUAH SEMANGKA POTONG DARI PEDAGANG BUAH KAKI LIMA DI KOTA DENPASAR

I Made Nugraha Gunamanta Sabudi¹, Made Agus Hendrayana²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

ABSTRAK

E. coli merupakan bakteri yang dapat menimbulkan manifestasi klinis berupa diare ringan hingga berat, khususnya *E. coli* serotipe O157 memiliki sifat bakteri yang patogen yang dapat menimbulkan diare berdarah. Buah semangka potong yang dijual oleh pedagang kaki lima merupakan buah yang diolah secara minimalis dan berpeluang terkontaminasi *E. coli* dengan berbagai cara selama proses pemotongan penyimpanan pengemasan hingga sampai ke konsumen. Maka dari itu dirasa penting untuk melakukan identifikasi *E. coli* serotipe O157 pada buah semangka potong yang dijual oleh pedagang buah kaki lima. Dengan demikian tujuan penelitian yang diharapkan adalah untuk mengetahui ada tidaknya bakteri *E. coli* serotipe O157 pada buah semangka potong yang dijual pedagang buah kaki lima di Denpasar. Metode penelitian ini menggunakan media penumbuh TSB, McConkey, EMBA, SMAC dan pengecatan gram untuk mengidentifikasi *E. coli* serotipe O157 pada sampel buah semangka potong. Didapatkan hasil dari sepuluh sampel yang diteliti ditemukan lima sampel menunjukkan tanda positif *E. coli*, dan tidak ada yang menunjukkan tanda positif *E. coli* O157. Dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat buah semangka potong yang menunjukkan adanya *E. coli* serotipe O157, namun ditemukan bakteri positif *E. coli* di daerah Kota Denpasar kecamatan Denpasar Utara, Denpasar Barat dan Denpasar Timur

Kata Kunci: Identifikasi, *E. coli*, serotipe O157, semangka, semangka potong, pedagang kaki lima

ABSTRACT

E. coli is a bacteria that can cause clinical manifestations from mild to severe diarrhea, especially *E. coli* serotipe O157 as pathogenic bacterium that can cause bloody diarrhea. Watermelon pieces sold by street vendors is a fruit that is processed in a minimalist way and have a chance contaminated with *E. coli* in various ways during the cutting process, storage, till packing up to the consumer. Therefore it was important to identify the *E. coli* serotipe O157 on watermelon pieces sold by street vendors. The aim of study was to determine whether there was *E. coli* serotipe O157 or not in watermelon pieces that sold by fruit street vendor in Denpasar. The method used TSB grower medium, McConkey, EMBA, SMAC and gram staining to identificate of *E. coli* serotipe O157 on watermelon pieces samples. The study found five samples showed positive signs of *E. coli*, and none showed signs of positive *E. coli* O157 from ten samples. As a conclusion there was no *E. coli* serotipe O157 showed on watermelon pieces, but found positive *E. coli* (non serotipe O157) in Denpasar, especially on North, West and East Denpasar

Keywords: Identification, *E. coli*, serotipe O157, Watermelon, Watermelon pieces, fruits street vendors

PENDAHULUAN

Diare di Indonesia masih menjadi penyakit yang memiliki angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi. Data survey subdit diare departemen kesehatan tahun 2000-2010 memiliki angka insidens yang cenderung meningkat. *Incidence Rate* (IR) tahun 2000, 2003, 2006, 2010 berturut-turut adalah 301/1000 penduduk, 374/1000 penduduk, 423/1000 penduduk dan 411/1000 penduduk. KLB juga terjadi pada tahun 2010 dengan *Case Fatality Rate* (CFR) 1,74%. KLB terjadi di 33 kecamatan dengan jumlah kematian 73 orang dari 4202 orang penderita diare. Adapun penyebab diare tersebut salah satunya diakibatkan infeksi bakteri *E. coli* khususnya serotipe O157. Infeksi *E. coli* khususnya jenis *Enterohemorrhagic E. coli* (EHEC) serotipe O157 dapat bermanifestasi buruk menimbulkan diare berdarah yang berujung menimbulkan morbiditas dan mortalitas.^{1,2,3}

Buah semangka potong adalah buah yang siap dikonsumsi dan hanya diolah dengan cara dipotong menjadi beberapa bagian. Kontaminasi bakteri *E. coli* dapat terjadi karena tidak adanya pengolahan lebih lanjut selain dipotong. Kontaminasi silang dari pisau potong pedagang buah khususnya pedagang buah kaki lima ke buah semangka yang dipotongnya juga dapat terjadi.⁴

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya bakteri *E. coli* khususnya serotipe O157 pada buah semangka potong yang dijual pedagang buah kaki lima di Kota Denpasar.

BAHAN DAN METODE

Metode penelitian ini menggunakan rancangan penelitian observasional deskriptif dengan rancangan studi eksploratif. Penelitian dilaksanakan selama bulan Oktober sampai Desember 2014. Pengambilan sampel menggunakan metode quota sampling nonrandom sampling, dengan mengambil 10 sampel buah semangka potong dari pedagang kaki lima yang tersebar di masing-masing kecamatan di Kota Denpasar. Penelitian pemeriksaan mikrobiologis dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Sampel buah yang sudah didapatkan dari pedagang buah kaki lima berikutnya diambil 25 mg dari bagian daging buahnya untuk ditumbuhkan di media penumbuh bakteri yaitu *Tryptic Soy Broth* (TSB). Hasil penumbuhan bakteri dari media TSB kemudian dipindahkan ke media *MacConkey* untuk melihat spesifik koloni *E. coli*. Setelah didapatkan *E. coli* yang positif. Positif *E. coli* kemudian dibiakkan di media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA). Sebagai langkah terakhir hasil biakan *E. coli* dari media EMBA ditanam pada *Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC) untuk identifikasi *E. coli* spesifik serotipe O157.

Data yang diperoleh dari sampel dan hasil biakan masing-masing media tanam disajikan dalam bentuk tabel, gambar, dan narasi.

HASIL

Penelitian menggunakan quota sampling dengan ditetapkan sepuluh sampel buah semangka potong yang didapatkan dari pedagang buah kaki lima di Kota Denpasar yang tersebar di empat kecamatan, yaitu Kecamatan Denpasar Selatan, Denpasar Utara, Denpasar Timur, dan Denpasar Barat

Kesepuluh sampel yang didapat dimasukkan kedalam larutan penyubur TSB, diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Sepuluh sampel menunjukkan tanda-tanda yang sama, yaitu keruh, terdapat gelembung dan bau, menunjukkan hasil positif bahwa pada kesepuluh sampel TSB tersebut ditumbuhi bakteri (**Tabel 1**).

Tabel 1. Hasil penanaman sampel pada media TSB

No. Sample	Kode Sampel	Hasil pada media TSB
1	SA	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
2	SB	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
3	SC	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
4	SD	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
5	SE	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
6	SF	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
7	SG	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
8	SH	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
9	SI	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)
10	SJ	Keruh (+), gelembung (+), bau (+)

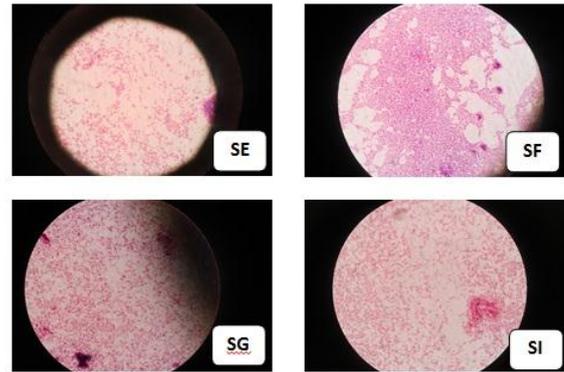
Hasil positif sampel pada media TSB dilanjutkan pada media *Mac Conkey*. Koloni bakteri yang tumbuh pada *Mac Conkey* selanjutnya diambil dan dilakukan pengecatan gram untuk mengetahui koloni tersebut adalah koloni bakteri gram negatif dan melihat bentuk koloni bakteri tersebut dibawah mikroskop. Sepuluh sampel (100%) menunjukkan hasil ditumbuhi koloni bakteri pada media *Mac Conkey* (**Gambar 1** dan **Tabel 2**) dan koloni bakteri tersebut adalah koloni bakteri gram negatif berdasarkan hasil pengecatan gram. Bakteri yang ditemukan berbentuk batang dari pengamatan dibawah mikroskop (**Gambar 2** dan **Tabel 3**).



Gambar 1. Hasil penanaman sampel SE dan SG pada media *Mac Conkey*

Tabel 2. Hasil inkubasi pada media *Mac Conkey*

No. Sample	Kode Sampel	Perubahan warna pada media <i>EMBA</i>
1	SA	Merah muda
2	SB	Merah muda keunguan
3	SC	Merah muda
4	SD	Merah muda, merah muda keunguan
5	SE	Hijau metalik (+)
6	SF	Hijau metalik (+)
7	SG	Merah muda, hijau metalik (+)
8	SH	Merah muda, hijau metalik (+)
9	SI	Merah muda, hijau metalik (+)
10	SJ	Bening, merah muda keunguan

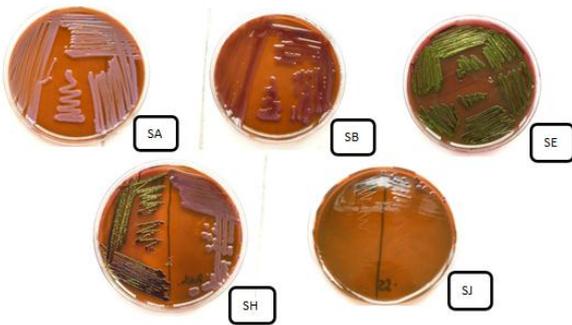


Gambar 2. Gambaran hasil pengecatan gram dibawah mikroskop

Tabel 3. hasil pengecatan gram dibawah mikroskop

No.	Kode	Perubahan warna pada media <i>Mac Conkey</i>
1	SA	Merah jambu (+)
2	SB	Merah jambu (+)
3	SC	Merah jambu (+)
4	SD	Merah jambu (+)
5	SE	Merah jambu (+)
6	SF	Merah jambu (+)
7	SG	Putih kekuningan, merah jambu (+)
8	SH	Putih kekuningan, merah jambu (+)
9	SI	Merah jambu (+)
10	SJ	Merah jambu (+)

Sampel berikutnya dipindahkan dari media *Mac Conkey* untuk ditanam pada media *EMBA* yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mengetahui secara selektif bakteri *E.coli*. Dari tanam sampel koloni bakteri gram negatif di media *EMBA* didapatkan 50% dari sampel didapatkan *E.coli* dengan gambaran hijau metalik (**Gambar 3** dan **Tabel 4**).



Gambar 3. Hasil penanaman pada media EMBA

Tabel 4. Hasil penanaman pada media EMBA

No. Sampel	Kode Sampel	Penampakan dibawah mikroskop
1	SA	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
2	SB	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
3	SC	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
4	SD	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
5	SE	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
6	SF	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
7	SG	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
8	SH	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
9	SI	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang
10	SJ	Merah muda (+), tampak koloni bakteri berbentuk batang

Untuk mengetahui *E.coli* tersebut adalah *E.coli* serotipe O157 dilakukan penanaman ke media SMAC pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Dari seluruh sampel tidak ada (0%) didapatkan sampel berwarna bening (*colourless*) yang menandakan tidak adanya koloni *E.coli* serotipe O157 (**Gambar 4** dan **Tabel 5**).



Gambar 4. Hasil penanaman pada media SMAC

Tabel 5. Hasil penanaman pada media SMAC

No. Sampel	Kode Sampel	Hasil pada media SMAC
1	SA	Tidak dilanjutkan ke media SMAC
2	SB	Tidak dilanjutkan ke media SMAC
3	SC	Tidak dilanjutkan ke media SMAC
4	SD	Tidak dilanjutkan ke media SMAC
5	SE	Berwarna merah jambu negatif (-) <i>E.coli</i> O157
6	SF	Berwarna merah jambu negatif (-) <i>E.coli</i> O157
7	SG	Berwarna merah jambu negatif (-) <i>E.coli</i> O157
8	SH	Berwarna merah jambu negatif (-) <i>E.coli</i> O157
9	SI	Berwarna merah jambu negatif (-) <i>E.coli</i> O157
10	SJ	Tidak dilanjutkan ke media SMAC

PEMBAHASAN

Kemampuan bakteri *E.coli* dalam memfermentasikan senyawa organik seperti karbohidrat, membuat sepuluh sampel yang dilarutkan ke dalam media *TSB* yang semula berwarna kuning menjadi keruh setelah diinkubasi pada inkubator selama 24 jam. Kemampuan *E.coli* untuk memfermentasi senyawa organik juga ditunjukkan dengan adanya gas berupa gelembung-gelembung pada media *TSB*, dan menimbulkan bau. Selanjutnya bakteri-bakteri yang sudah tumbuh pada *TSB* ditumbuhkan pada media *Mac Conkey* untuk mendapatkan koloni bakteri dan selanjutnya dapat digunakan untuk melihat gram koloni bakteri tersebut dengan uji pengecatan gram bakteri. Koloni bakteri dari media *Mac Conkey* tersebut kemudian dipindahkan ke media *EMBA* sebagai media selektif pertumbuhan *E.coli*. Identifikasi akhir *E.coli* serotipe O157 dilakukan dengan menanam hasil *E.coli* pada media *SMAC*.⁵

Pada proses isolasi koloni bakteri dengan menggunakan media *Mac Conkey*, didapatkan kesepuluh sampel menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri. Temuan warna merah muda didapatkan karena kemampuan *E.coli* sebagai bakteri gram negatif memfermentasi laktosa mengakibatkan pH media bernilai dibawah 6,8 menjadikan media berwarna merah netral namun oleh *E. coli* warna merah netral tersebut diserap sehingga pada akhirnya yang tersisa nampak pada media berwarna merah muda. Akan tetapi warna merah muda bukanlah satu-satunya warna yang spesifik untuk *E.coli*, sehingga butuh pemeriksaan uji pengecatan gram dan media tanam selektif pertumbuhan *E.coli* untuk memastikannya.⁶

Koloni bakteri yang tumbuh pada media *Mac Conkey* kemudian dilanjutkan dengan uji pengecatan gram. Uji ini dilakukan dengan menggunakan larutan kristal violet, lugol, air fushin dan alkohol 96%. Didapatkan hasil pada pengecatan gram koloni bakteri berwarna merah muda berbentuk batang. Sesuai dengan hasil pengamatan kesepuluh preparat sampel dibawah mikroskop didapatkan warna dan bentuk yang sesuai dengan ciri *E. coli* yaitu merah muda berbentuk batang. Namun dengan pengecatan gram belum bisa menyingkirkan adanya koloni gram negatif lainnya sehingga yang didapat

tetap bakteri gram negatif. Diperlukan media tanam yang selektif *E.coli* menggunakan *EMBA*.⁶

Media *EMBA* sebagai media yang selektif terhadap pertumbuhan *E.coli*. Perubahan media yang semula berwarna merah tua kehitaman menjadi hijau metalik dikarenakan peningkatan keasaman agar, dan pengambilan warna oleh proses fermentasi *E.coli*, sehingga media ini selektif untuk pertumbuhan *E.coli*. Lima dari sepuluh sampel yang ditanam pada media *EMBA*, menunjukkan perubahan warna hijau metalik dan sisanya berwarna merah muda sampai merah muda keunguan menandakan coliform. Tidak ada ditemukan penanda koloni *salmonella* dengan warna colorless/bening, tidak ada ditemukan penanda *Eterobacter aerogenes* dengan warna coklat kebiruan, tidak ada ditemukan penanda *klebsiella* dengan warna cokelat.^{7,8,9}

Identifikasi *E.coli* serotipe O157 dilakukan dengan penanaman sampel pada media *SMAC*, bakteri *E.coli* serotipe O157 tidak akan memfermentasi sorbitol sehingga memberikan penampakan yang bening pada media tersebut, sedangkan *E.coli* selain serotipe O157 memberikan penampakan merah jambu dikarenakan bakteri *E.coli* non O157 memfermentasi sorbitol. Dari lima sampel yang diperiksa, tidak ditemukan adanya *E. coli* serotipe O157.⁸

Sepuluh sampel yang didapatkan dari seluruh kecamatan di Kota Denpasar ditemukan lima sampel terkontaminasi *E. coli* yang berasal dari pedagang buah kaki lima yang menjual buah semangka potong di Kecamatan Denpasar Selatan, Denpasar Timur dan Denpasar Barat. Tidak ditemukan sampel terkontaminasi *E. coli* serotipe O157. Kontaminasi *E. coli* pada buah semangka potong ini bisa berasal dari berbagai cara, dimulai dari proses pemotongan buah semangka utuh menjadi buah semangka potong melalui kontaminasi langsung dari pisau atau kontaminasi silang dari penggunaan pisau pada saat memotong benda atau buah lainnya tanpa pencucian bersih sebelumnya. Proses penyimpanan dan penyajian juga bisa menjadi salah satu peluang kontaminasi *E. coli* pada buah semangka potong, mulai dari higienitas tempat penyimpanan, suhu hidup *E. coli* pada tempat penyimpanan, dan pengemasan buah semangka potong tersebut.

Pemotongan buah dengan menggunakan pisau yang sama tanpa dibersihkan terlebih dahulu berpeluang memberikan kontaminasi silang. Berdasarkan penelitian Mc Evoy tahun 2009, pada daun selada yang dipotong beberapa kali dengan pisau yang sudah diberikan *E. coli* O157 sejumlah 2×10^5 , didapatkan jumlah koloni *E. coli* O157 yang meningkat pada daun selada dibandingkan pada pisau (lebih dari 2×10^5). Ini menandakan bahwa kontaminasi silang dari pisau dapat terjadi dan memberikan peningkatan jumlah koloni *E. coli* O157 menjadi lebih banyak ketika sampai di daun selada. Pada penelitian tidak dilakukan pembuktian ada tidaknya kontaminasi *E. coli* O157 pada pisau yang digunakan untuk memotong buah semangka potong sehingga peneliti belum bisa memastikan ada atau tidaknya kontaminasi silang *E. coli* O157 dari pisau yang digunakan ke buah semangka potong

Berdasarkan tempat penyimpanan buah semangka potong oleh pedagang buah kaki lima penyebab tidak ditemukannya koloni *E. coli* O157 dipengaruhi oleh faktor suhu hidup dan tumbuh *E. coli*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Di Li tahun 2012 didapatkan hasil bahwa *E. coli* serotipe O157 tidak berkembang baik dengan suhu dibawah 5°C pada buah melon, dan mulai dapat berkembang meningkatkan CFU (*Colony Forming Unit*) apabila mendapatkan suhu diatas 5°C . Bila ditinjau dari tempat penyimpanan pedagang, setiap pedagang menggunakan es sebagai pendingin di dalam ruang simpan buah yang membuat suhu tempat penyimpanan dingin dan tidak memadai untuk hidup *E. coli* O157. Akan tetapi, peneliti belum dapat memastikan pada penelitian ini faktor penyebab tidak dididaktkannya *E. coli* O157 dikarenakan oleh es sebagai pendingin ruang simpan buah atau tidak dikarenakan peneliti tidak melakukan pengukuran suhu ruangan secara detail menggunakan termometer.¹¹

Pedagang buah kaki lima yang diambil buah semangka potongnya juga memiliki pola penjualan yang berbeda, terutama dapat dilihat dari bagaimana proses penyimpanan dan pengemasannya. Pedagang buah kaki lima dengan buah sampel SA, SB, SC, SF tidak dikemas dalam plastik dari awal penyimpanan, sedangkan SD, SE, SG, SH, SI, SJ sudah dikemas dalam plastik. Perbedaan ini memang tidak bisa dijadikan suatu acuan pasti kontaminasi *E. coli*

terjadi tahap ini melihat pada hasil tidak didapatkan perbedaan atas keadaan pengemasan yang berbeda tersebut. Bentuk kontaminasi-kontaminasi lainnya masih bisa terjadi sebelum proses yang berbeda pada sampel-sampel tersebut.

Tidak ditemukannya *E. coli* O157 merupakan indikasi baik bahwa pada buah semangka potong yang dijual di daerah Kota Denpasar tidak akan menginfeksi *E. coli* serotipe tersebut, namun temuan *E. coli* tetap menjadi pertimbangan bakteri yang bisa menimbulkan manifestasi klinis diare ringan hingga berat bergantung dari jumlah *E. coli* yang terdapat pada makanan tersebut. Menjadi penting untuk mengetahui bagaimana proses pemotongan buah semangka potong tersebut dan melihat bagaimana penyimpanan buah semangka tersebut oleh pedagang buah kaki lima.

SIMPULAN

Hasil Penelitian menunjukkan 50% dari seluruh sampel buah semangka potong yang dijual pedagang buah kaki lima di Kota Denpasar terkontaminasi *E. coli*, namun tidak satupun terkontaminasi *E. coli* O157.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adisasmito Wiku. *Faktor Risiko Diare Pada Bayi dan Balita di Indonesia*. Makara, Kesehatan, 2007
2. Kementerian Kesehatan RI. *Situasi Diare di Indonesia*. Triwulan II. Buletin Jendela Data dan Informasi Kesehatan : Jakarta. 2011
3. CDC (Control for Disease Control and Prevention). *Reports of Selected E. coli Outbreak Investigations*. Diunduh dari <http://www.cdc.gov/ecoli/outbreaks.html> . Diakses pada 10 Desember 2014
4. CookSafe. *House Rules Cross Contamination Prevention*. Food Safety Assurance System, 2012; Issue 1.1
5. Hendriksen RS. *Isolation and Identification of Enterohaemorrhagic Escherichia Coli O157*. Global Salm-Survey. 2003 ; 1:1-18

6. Allen, M E. *MacConkey Agar Plates Protocols*. Diunduh dari <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/2855-macconkey-agar-plates-protocols>. Diakses pada 16 Februari 2014.
7. Badan POM RI. *Info POM*. BPPOM RI. Maret, 2008; vol9(2): Jakarta.
8. Arifah, I N. *Analisis Mikrobiologi pada Makanan*. Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret. 2010
9. Biokar Diagnostic. *EMB Agar (Levine)*. 2010-01-12
10. McEvoy, James L dkk. *Potential of Escherichia coli O157:H7 to grow on field-cored lettuce as impacted by postharvest storage time and temperature*. International Journal of Food Microbiology: Elsevier. 2008
11. Li, Di et al. *Development and Validation of a Mathematical Model for Growth of Pathogens in Cut Melons*. Journal of Food Protection. 2012; Vol. 76, No. 6, 2013, h 953–958