

DETEKSI SEROTIPE BAKTERI *Vibrio cholerae* O1 PADA SAMPEL ES PENGAWET HASIL LAUT DI PASAR IKAN KEDONGANAN, KUTA, BALI

IGM Wijaya P¹, P Yuniadi A¹, IP Ananta WS¹, IGP Dhinarananta¹,
M Agus Hendrayana²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Udayana

²Staf Bagian/ SMF Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana/
RSUP Sanglah

ABSTRAK

Vibrio cholerae merupakan penyakit yang menyerang saluran cerna dimana 20% penderitanya mengalami diare akut dan 10-20% di antaranya adalah diare sangat berat dengan kejadian yang semakin meningkat di Indonesia. Bali berpotensi kuat terserang bakteri kolera terutama pada es yang dipakai sebagai pengawet ikan karena iklim tropis dengan hasil laut melimpah dimana Pasar Ikan Kedonganan merupakan salah satu pusat penjualannya. Penelitian ini merupakan observasional deskriptif dengan rancangan studi eksploratif yang bertujuan untuk mendeteksi investasi *V. cholerae* pada es pengawet. Sampel adalah es atau air es yang dipergunakan untuk mengawetkan hasil laut di Pasar Ikan Kedonganan yang dipilih secara acak, diinkubasi dalam media *Alkaline Peptone Water* (APW) kemudian dilakukan pemeriksaan kultur media TCBS yang mengacu pada protokol isolasi *V. Cholerae* untuk sampel lingkungan dari Universitas Kobe, Jepang; pengecatan gram sesuai prosedur di FK Unud; dan pemeriksaan serologi latex menggunakan prosedur dan kit *V. cholerae* O1 AD 'seiken'. Dari 10 sampel yang diperoleh, ditemukan 21 koloni tunggal bakteri dimana 8 diantaranya dicurigai merupakan *V. cholerae* berdasarkan hasil kultur dan gram. Koloni-koloni ini kemudian dilakukan pemeriksaan serologi latex untuk memastikan keberadaan bakteri *V. cholerae* dan mengetahui serotipenya. Berdasarkan analisis interpretasi hasil kultur bakteri, pengecatan gram, dan pemeriksaan serologi, didapatkan 50% sampel positif mengandung bakteri *V. cholera*O1 tipe Inaba.

Kata kunci: *Vibrio cholera*, inaba, es, Pasar Ikan Kedonganan

**DETECTION OF *Vibrio cholerae*O1 SEROTYPE
IN ICE PRESERVATIVES OF SEA PRODUCTS
AT KEDONGANAN FISH MARKET, KUTA, BALI**

ABSTRACT

Vibrio cholerae is one of gut attacking bacteria in which 20% of the victims suffered acute diarrhea and 10-20% of them were severe, in addition the mode of case in Indonesia are increasing. Bali is a threatened area especially by ice preservative of sea products investment since it has a tropical climate with tons of sea products, and one of most popular fish market is Kedonganan Fish Market. We were conducting a descriptive observational with explorative study which is aimed to detect *V. cholerae* investation in ice preservative. The samples are ice or melted ice which are used to preserve sea product at Kedonganan Fish Market and each were choosed randomly. The samples processed in Alkaline Peptone Water (APW) and planted on TCBS media for microbiological culture exploration which refer to Kobe University protocol of *V. cholerae* isolation from environment; painted for gram evaluation based on our departement's procedures; and latex serology evaluation using tools of *V. cholerae* O1 AD 'seiken'. Of 10 samples obtained, 21 single bacterial colonies were found, in which 8 of them were suspected as *V. cholerae*'s colonies based on microbiological culture and gram painting evaluation. The suspected colonies are then undergone latex serology test to make sure the existence of *V. cholerae* and knowing its serotype. Based on the result analysis and interpretation of microbiological culture test, gram painting, and serology exploration, its found that 50% of samples were invested by Inaba type of *V. cholerae* O1.

Keyword: *Vibrio cholera*, inaba, ice, Kedonganan Fish Market

PENDAHULUAN

Kolera merupakan penyakit yang sudah lama dikenal dunia.¹ Sekitar 20% dari seluruh penderita kolera menderita diare akut, dimana 10-20% di antaranya adalah diare yang sangat berat dengan gejala muntah.¹ Perjalanan kejadian kolera di Indonesia telah sejak lama terjadi namun penelusuran mengenai penyakit ini di tidak terlalu jauh teridentifikasi, termasuk di daerah Bali karena faktor budaya dan kurangnya sarana diagnostik.^{2,3} Saat ini secara umum tingkat kematian kasus kolera tanpa pengobatan antara 25-50%.⁴

Gejala kolera yang khas dimulai dengan munculnya diare yang encer berwarna seperti cucian beras dan berlimpah, tanpa diawali dengan adanya rasa mulas dan tanpa *tenesmus*. Apabila tidak mendapat penanganan yang baik, penyakit ini dapat mengakibatkan dehidrasi berat sampai kematian dengan kemungkinan yang lebih tinggi pada wanita hamil dan anak-anak.⁵

Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Vibrio cholerae* yang dapat tumbuh dalam media dengan konsentrasi garam yang cukup tinggi.⁶ Sebuah penelitian di Hongkong pada tahun 2003 mendapatkan 38% dari kasus kolera yang terjadi berasal dari hasil perikanan laut, dan dalam analisis berbeda didapatkan 59% kasus disebabkan karena makanan yang dimasak tidak secara matang.⁷

Transmisi dan sumber infeksi *V. cholerae* berasal dari air yang terkontaminasi maupun ikan atau produk perikanan yang pernah kontak dengan air yang terkontaminasi tersebut.^{7,8,9} Transmisi primer di Amerika terjadi akibat konsumsi produk laut yang mentah atau setengah matang, sedangkan di area pandemi sumber utama terjadi dari konsumsi produk laut, sayur, makanan, air maupun es yang

terkontaminasi.¹⁰Penyebaran melalui kontak langsung antar manusia, seperti bersentuhan, jabat tangan, maupun merawat pasien, belum dapat dibuktikan.¹¹

Pulau Bali sangat berpotensi untuk menjadi tempat hidup bakteri *V. cholerae* karena dikelilingi pantai dan beriklim tropis. Warga masyarakat memanfaatkan dan mengolah air menjadi berbagai keperluan, termasuk sebagai es untuk pengawet hasil perikanan di pasar. Penggunaan es sebagai sarana pengawet secara efektif memperpanjang masa kesegaran ikan sehingga dapat mempertahankan nilai ekonomi lebih lama.¹²Salah satu pasar ikan yang sangat terkenal di daerah Bali bagian selatan adalah Pasar Ikan Kedonganan yang terletak di daerah Kuta, Kabupaten Badung, Bali. Sebagian besar dari pedagang memanfaatkan es balok, sebagai sarana untuk mengawetkan barang dagangan pada lapak-lapak penjualan.

Berdasarkan data tersebut penulis tertarik melakukan penelitian untuk mendeteksi keberadaan bakteri *V. cholerae* pada es atau air es yang digunakan sebagai pengawet hasil laut di Pasar Ikan Kedonganan, Kuta, Bali. Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat menjadi data awal yang menggambarkan tingkat kontaminasi bakteri *V. cholerae* pada es yang dipakai untuk pengawet di salah satu pusat hasil laut dan lebih jauh lagi dapat menjadi acuan untuk penelitian lebih lanjut dalam mencari hubungan kontaminasi ini dengan kejadian diare akibat bakteri *V. cholerae* khususnya di Bali.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah studi observasional deskriptif dengan rancangan penelitian studi eksploratif yang terdiri dari tahap pengambilan sampel pada 11 Januari 2011 dan eksplorasi sampel pada 12-14 Januari 2011 bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Populasi penelitian adalah pedagang ikan dan hasil laut di Pasar Ikan Kedonganan, Kuta, Bali. Sampel penelitian adalah es atau air es

pendingin yang dipergunakan untuk mengawetkan barang dagangan hasil laut di Pasar Ikan Kedonganan.

Jumlah sampel yang dipergunakan adalah 10 sampel yang dipilih di antara seluruh pedagang hasil perikanan laut di Pasar Ikan Kedonganan. Sampel didapatkan melalui teknik acak dan ditentukan oleh peneliti. Es yang masuk kriteria inklusi diambil dengan metode aseptik, kemudian disimpan dalam plastik steril dan pendingin sebelum diproses di laboratorium.

Sampel es penelitian diambil sebanyak sebongkah (± 50 cc) dengan menggunakan tangan aseptik dan langsung dimasukkan ke dalam kantong plastik steril yang telah diberi label. Metode kultur yang dilakukan mengacu pada protokol isolasi *V. Cholerae* untuk sampel lingkungan (makanan laut dan sungai atau air es) dari Universitas Kobe Jepang, yaitu kurang lebih 50cc sampel dimasukkan ke dalam larutan 50cc akuades dan 2mg serbuk APW. Setelah dilakukan proses homogen, campuran diinkubasi selama 24 jam dalam inkubator bersuhu 37°C . Media agar TCBS dibuat dengan mencampurkan 500ml akuades steril dengan 44 gram *CM0333 TCBS Cholerae Medium* ke dalam tabung kemudian direbus sampai larut. Hasil rebusan kemudian didiamkan sampai hangat dan dituangkan ke dalam cawan petri masing-masing ± 20 ml kemudian diberi label. Setelah proses inkubasi, bahan dikultur di atas media TCBS. Satu ose bahan dioleskan di atas media dengan teknik *streak* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bahan dalam media yang telah diinkubasi dievaluasi dan dicatat terkait jenis dan interpretasi koloni yang tumbuh.

Koloni yang dievaluasi adalah koloni tunggal dan terpisah dari koloni lainnya. Koloni yang bersinggungan maupun memiliki warna campuran tidak dievaluasi karena dicurigai koloni tersebut tidak tunggal. Semua koloni tunggal yang didapatkan dari hasil

kultur kemudian dilakukan pemeriksaan gram untuk dievaluasi secara mikro menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran lensa objektif 100x..Koloni yang dicurigai mengandung *V. cholera* berdasarkan hasil kultur, yaitu berwarna kuning dan gram, yaitu gram negatif berbentuk batang atau koma kemudian dilakukan pemeriksaan serologi latex menggunakan kit *V. cholerae* O1 AD ‘seiken’ dengan prosedur sesuai petunjuk dalam kit..

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengambilan Sampel

Semua sampel es yang didapatkan dalam penelitian adalah es balok dari pedagang berbeda-beda yang diletakkan bersamaan dengan hasil laut yang dijajakan. Rincian sampel tersebut dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel1. Rangkuman hasil sampling.

No Sampel	Tipe Es	Produk Awetan
K1	Balok	Udang windu
K2	Balok	Cumi-cumi
K3	Balok	Kakap merah
K4	Balok	Kerapu
K5	Balok	Cumi kota
K6	Balok	Jengki besar
K7	Balok	Lobster
K8	Balok	Cumi-cumi
K9	Balok	Jengki kecil
K10	Balok	Udang

Hasil dan Analisis Pemeriksaan Mikrobiologis Kultur dan Pengecatan Gram

Bahan yang telah diinkubasi dalam APW selama 24 jam menunjukkan kekeruhan di seluruh sampel dengan aroma menyengat yang mengindikasikan adanya pertumbuhan bakteri di dalamnya. Sebagian besar bakteri yang tumbuh baik pada larutan APW dicurigai adalah spesies *Vibrio* mengingat komposisi di dalamnya disesuaikan dengan kebutuhannya.¹¹Rangkuman hasil pemeriksaan kultur dan gram dapat dilihat pada tabel

2, sedangkan gambaran hasil koloni yang tumbuh pada kultur mikrobiologi dapat dilihat pada gambar 1.

Tabel2. Rangkuman hasil mikrobiologi kultur dan pengecatan gram

No Sampel	Hasil Mikrobiologi Kultur		Interpretasi Mikroskopis Pengecatan Gram
	Warna Koloni	Interpretasi Permukaan Koloni	
K1*	Hijau	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Hijau	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
K2*	Kuning	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Hitam	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
K3	Kuning	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang, koma
	Hijau	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
K4	Kuning	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang, koma
K5	Kuning	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Hijau	Datar, tidak mengkilat, kasar	Gram positif, batang
K6	Hijau	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
K7	Hijau	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Kuning	Datar, mengkilat, halus	Gram positif, batang
K8	Hijau	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Kuning	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang, koma
	Hitam	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
K9	Hijau1	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Hijau2	Datar, mengkilat, kasar	Gram negatif, batang
	Kuning	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
K10	Hijau	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Kuning	Cembung, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
	Hitam	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang

* koloni yang dicurigai mengandung *V. cholera*, tetapi tidak dapat dievaluasi dengan baik, untuk itu dilakukan subkultur ulang dari spesimen bersangkutan dan didapatkan koloni dengan gambaran datar, berwarna kuning, dan mengkilat

Analisis Koloni yang Dicurigai Mengandung *V. cholera*

Koloni pada hasil kultur media agar TCBS yang dicurigai merupakan bakteri *V. cholera* adalah yang berwarna kuning, dari koloni tersebut dilakukan pemeriksaan gram. Bakteri yang dicurigai *V. cholera* dari pemeriksaan gram adalah bakteri gram negatif berbentuk batang atau koma. Rangkuman sampel yang dicurigai dapat dilihat pada tabel

3.

Hasil dan Analisis Pemeriksaan Serologi

Pemeriksaan serologi ini dikerjakan terhadap sampel yang dicurigai merupakan koloni *V. cholera* berdasarkan pemeriksaan kultur dan gram dengan hasil yang terangkum pada tabel 4.

Tabel 3. Rangkuman koloni yang dicurigai mengandung *V. cholera*.

No.	No. Sampel	Kultur media TCBS		Interpretasi Gram
		Warna	Gambaran	
1.	K1	Kuning	Datar, Mengkilat, Halus	Gram negatif, batang
2.	K2	Kuning	Datar, Mengkilat, Halus	Gram negatif, batang
3.	K3	Kuning	Datar, Mengkilat, Halus	Gram negatif, batang, koma
4.	K4	Kuning	Datar, Mengkilat, Halus	Gram negatif, batang, koma
5.	K5	Kuning	Datar, mengkilat, halus	Gram negatif, batang
6.	K8	Kuning	Cembung, Mengkilat, halus	Gram negatif, batang, koma
7.	K9	Kuning	Cembung, Mengkilat, halus	Gram negatif, batang
8.	K10	kuning	Cembung, Mengkilat, halus	Gram negatif, batang

Tabel 4. Rangkuman pemeriksaan serologi.

No.	No. Sampel	Hasil				Interpretasi
		A	B	C	D	
1.	K1*	+	-	+	-	Inaba
2.	K2*	+	-	+	-	Inaba
3.	K3	+	-	+	-	Inaba
4.	K4	+	-	+	-	Inaba
5.	K5	-	-	-	-	Bukan <i>V. cholera O1</i>
6.	K8	+	-	+	-	Inaba
7.	K9	-	-	-	-	Bukan <i>V. cholera O1</i>
8.	K10	-	-	-	-	Bukan <i>V. cholera O1</i>

*koloni yang digunakan sebagai sampel pemeriksaan *latex* berasal dari hasil subkultur media TCBS.

Berdasarkan analisis interpretasi hasil kultur bakteri, pengecatan gram, dan pemeriksaan serologi, didapatkan sebanyak 5 dari 10 atau 50% sampel es dan air es dari pengawet ikan di Pasar Ikan Kedonganan positif mengandung bakteri *V. cholera O1* tipe Inaba.

DISKUSI

Sampel yang dipergunakan dalam penelitian ini telah kontak dengan hasil perikanan laut, yaitu ikan, cumi, udang, dan lobster. Hasil yang menunjukkan deteksi positif terhadap *V. cholera* dapat dijadikan acuan awal dalam menelusuri lebih jauh mengenai hubungan antara makanan laut dengan model transmisi penyakit kolera. Suzita dkk, melalui tinjauan di Malaysia pada tahun 2009 telah menyimpulkan adanya hubungan antara makanan laut secara umum maupun kerang laut dengan penyebab kejadian wabah kolera di daerah tersebut.⁸

Departemen pangan dan higienisitas lingkungan di Hongkong pada tahun 2005 merilis sebuah hasil penelitian yang mendapatkan 38% dari kasus kolera yang terjadi berasal dari hasil perikanan laut, dan dalam analisis berbeda didapatkan 59% kasus disebabkan karena makanan yang dimasak tidak secara matang.⁷ Asosiasi yang kuat telah dibuktikan antara keberadaan *V. cholera* dan zooplankton yang ada pada lingkungan air melalui penelitian Huq dkk.¹³ Sedangkan Colwell dkk mengemukakan transmisi utama penyakit kolera ditentukan oleh faktor lingkungan seperti temperatur, kebersihan dan konsentrasi nutrien seperti *zooplankton* dalam air.¹³

Pada penelitian ini didapatkan setengah dari sampel yang diuji positif mengandung bakteri *V. cholerae* O1 tipe Inaba. Penelitian dengan luaran yang serupa dengan juga pernah diperoleh oleh Taneja, dkk pada tahun 2005 yang berhasil mendeteksi 15 infeksi bakteri *V. cholera* O1 tipe Inaba dari 32 pasien yang menderita tanda dan gejala penyakit kolera di India.¹¹

SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan 10 sampel yang didapat, seluruhnya menunjukkan kekeruhan setelah dicampur dengan APW sesuai metode yang menunjukkan pertumbuhan bakteri di dalamnya. Setelah dilakukan penanaman pada media TCBS, didapatkan 21 koloni ditambah 1 koloni lagi dari pemeriksaan subkultur, dimana 9 dari 10 sampel (90%) berwarna kuning dan dicurigai merupakan koloni *V. cholera*. Evaluasi pengecatan gram mendapatkan 3 koloni bakteri gram negatif berbentuk batang dan koma, serta 16 koloni teridentifikasi bakteri gram negatif berbentuk batang. Terdapat 8 sampel yang dicurigai mengandung bakteri *V. cholera* dan setelah dilakukan pemeriksaan serologi *latex* didapatkan 5 dari 10 sampel (50%) yang positif mengandung bakteri *V. cholera* O1 tipe Inaba.

Penelitian ini hanya menggambarkan keberadaan *V. cholera* pada sampel es pengawet untuk itu penelitian lebih lanjut diperlukan untuk membuktikan asosiasi kedua variabel tersebut. Lebih jauh lagi di Bali belum banyak penelitian serupa, oleh karena itu diperlukan penelitian lebih lanjut di tempat lain, tidak hanya di daerah Kedonganan.

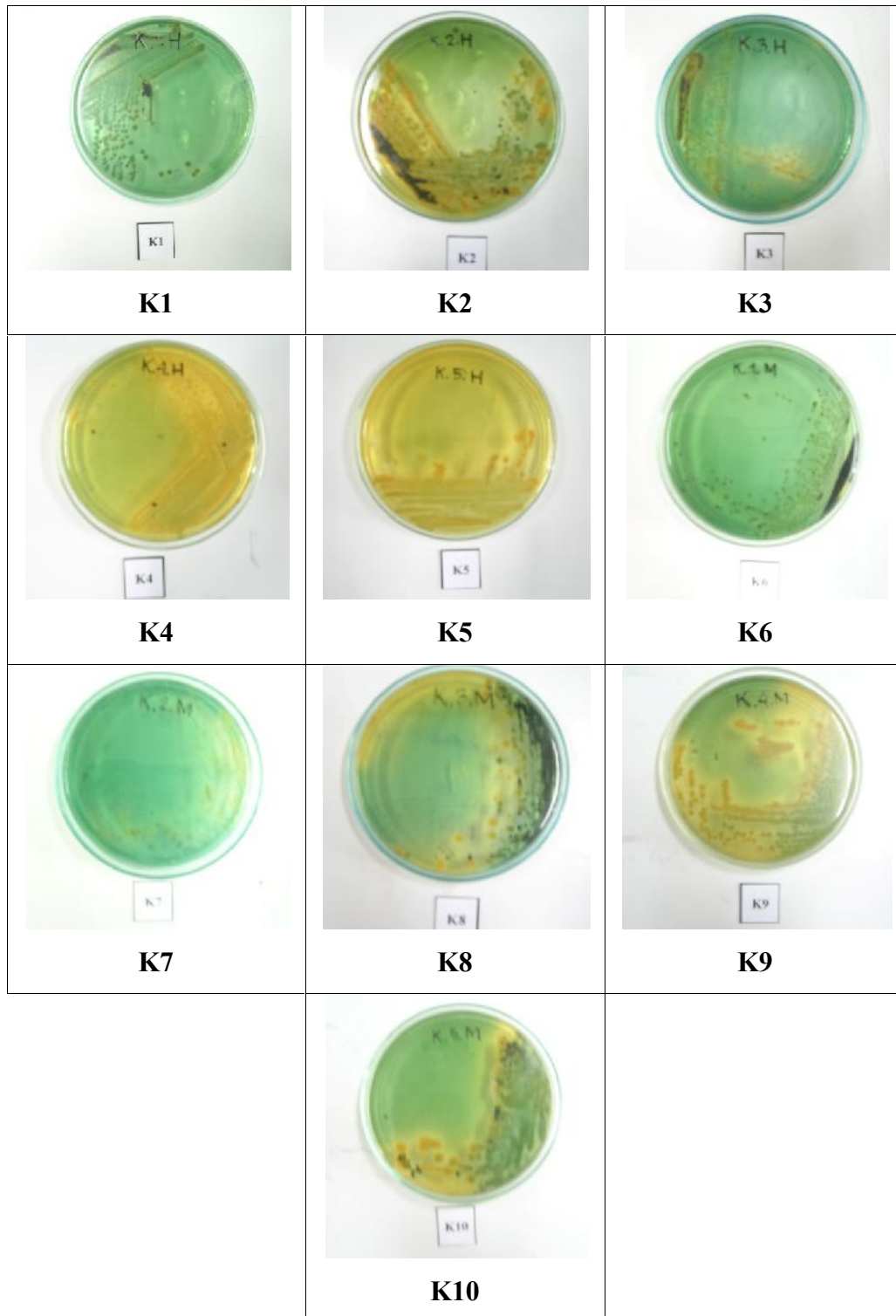
UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada bagian mikrobiologi Fakultas Kedokteran universitas Udayana/ RSUP Sanglah beserta staf laboratorium atas segala fasilitas yang menunjang pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. *Cholera Outbreak: Assessing the Outbreak Response and Improving Preparedness*. Global Task Force on Cholera Control. 2004. h: 7-18.

2. Richie E, Punjabi NH, Simanjuntak CH. *Progress in Diarrheal Disease Research at Namru-2 in Collaboration in BadanLitbangkes and RSPI*. Bul. Penelitian Kesehatan (23)3. 1995. h: 68-72.
3. Simanjuntak CH, dkk. *Cholera in Indonesia in 1993-1999*. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene 65(5). 2002. h: 788-797.
4. Amelia S. *Vibrio Cholerae*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara (USU). 2005. h: 5-17.
5. Handa S. *Cholera*. 2010. Diunduh dari: <http://emedicine.medscape.com/article/214911-overview> (akses: 12 Januari 2011).
6. Matson JS, Withey JH, DiRita VJ. *Regulatory Networks Controlling Vibrio Cholerae Virulence Gene Expression*. American Society for Microbiology. 2007. h: 5542-5549.
7. Food and Environment Hygiene Departement. *Vibrio Species in Seafood*. The Government of the Hongkong Special Administrative Region. 2005.
8. Suzita R, Abdulamir AS, Bakar FA, Son R. *A Mini Review: Cholera Outbreak via Shellfish*. American Journal of Infectious Disease 5(1). 2009. h: 40-47.
9. Novotny L, Dvorska L, Lorencova A, Beran V, Pavlik I. *Fish: a Potential Source of Bacterial Pathogens for Human Beings*. Veterinarity Research Institute. Czech Republic. 2004. h: 343-358.
10. Infectious Disease Epidemiology Section. *Cholera and Other Vibrio*. Office of Public Health, Lousiana Departement of Health and Hospitals. 2006. h: 1-8. Diunduh dari: www.infectiousdisease.dhh.louisiana.gov. (akses: 19 Januari 2011).
11. Taneja N, dkk. *Emergence of Vibrio cholera O1 Biotipe El Tor Serotype Inaba in North India*. Japan Journal of Inectious Disease. 2005. h: 238-240.
12. Shawyer M, Pizzali AFM. *The Use of Ice on Small Fishing Vessels*. Food and Agricultural Organization of The United Nations. 2003. h: 9-21.
13. World Health Organization, Food and Agricultural Organization. *Risk Assessment of choleraenic Vibrio cholera O1 and O139 in warm-water shrimp in international trade*. Microbiological Risk Assessment Series 9th edition. 2005. h: 17-21.



Gambar 1. Gambaran hasil kultur sampel. Kesepuluh sampel yang telah didapatkan kemudian dikultur dalam media agar TCBS dan didiamkan dalam inkubator selama 24 jam. Secara umum terdapat penampakan tiga jenis koloni yang berwarna kuning, hijau, dan hitam. Koloni yang dicurigai *V. cholerae* adalah berwarna kuning.