

KARAKTERISTIK FENOTIF ISOLAT KLINIK *Escherichia coli* O157:H7 PADA MEDIA SORBITOL MAC CONKEY AGAR (SMAC)

Wahyu Hidayati^{1*)}, I Gede Rai Maya Temaja², Ni Nengah Dwi Fatmawati³

¹ Mahasiswa Magister Bioteknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Udayana

² Fakultas Pertanian Universitas Udayana

³ Departemen Mikrobiologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar

^{*)}Email: hidayatiwahyu.fkunud@gmail.com

Abstract

Phenotypic Characteristic of *Escherichia coli* O157: H7 Clinical Isolates on MacConkey Agar with Sorbitol (SMAC)

Escherichia coli is a Gram-negative, rod-shaped bacterium, and commonly has flagella. Most of *E. coli* strains are normal flora in digestive tract of human, but some serotypes are pathogen for human and animal. One of pathogenic *E. coli* strain that causes a severe infection in humans (*hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome*) is known as *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) with cattle as their natural reservoir. *E. coli* O157:H7 is the most important and pathogenic serotype of EHEC which responsible for outbreak of *Hemorrhagic Colitis* and *Hemolytic Uremia Syndrome*. Accurate and cheap method detection of *E. coli* O157:H7 is needed to help early detection diagnosis and therapy. Therefore, the aim of this study is investigate phenotypic characteristics of *E. coli* O157:H7 isolated from clinical specimens using MacConkey Agar with Sorbitol (SMAC) media. Three *E. coli* clinical isolates from Sanglah General Hospital showed colorless non-sorbitol fermenting colony in SMAC media as phenotypic characteristic of *E. coli* O17:H7, therefore SMAC may be used on are of confirmation methods for *E. coli* O157:H7 detection from clinical isolats.

Keyword: *E. coli* O157:H7, Phenotype, SMAC

1. Pendahuluan

Escherichia coli (*E. coli*) adalah bakteri berbentuk batang, Gram negatif, dan biasanya mempunyai flagella. Bakteri ini termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae* genus *Escherichia* dan bersifat aerob. Kebanyakan bersifat flora normal pada usus manusia. Namun demikian beberapa serotipe dari bakteri ini dapat menjadi patogen dalam tubuh manusia maupun hewan (Nataro & Kaper, 1998). Strain patogen memiliki beberapa faktor virulensi yang tidak dimiliki oleh strain non patogen (Aranda *et al*, 2004).

Enterohemorrhagic Escherichia coli (EHEC) merupakan salah satu bakteri *E. coli* patogen yang sangat berbahaya bagi kesehatan manusia karena dapat menyebabkan penyakit yang fatal seperti *Hemorrhagic colitis* (HC) yang ditandai dengan gejala khas yaitu diare berdarah dan *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) yaitu infeksi saluran kencing yang menyebabkan gangguan fungsi ginjal. Diantara beberapa serotipe EHEC, yang paling berbahaya adalah serotipe O157:H7 (Suwito, 2009). Bakteri ini masih menjadi perhatian dunia karena sering menyebabkan wabah. Insiden O157:H7 pertama kali terjadi pada tahun 1982 yaitu terjadinya diare berdarah hingga *Hemolytic Uremic Syndrome* (HUS) (CDC, 1982). Tahun 2000 wabah *E.coli* O157:H7 terjadi di Amerika dan diperkirakan ada 78.480 kasus setiap tahunnya yang menyebabkan 2.168 pasien rawat inap, 61 mengalami kematian dan banyak anak yang mengalami gagal ginjal akut (Chad. et al, 2012).

Di Indonesia belum pernah dilaporkan adanya wabah diare yang disebabkan oleh bakteri ini. Namun demikian Indonesia juga masih menghadapi risiko terinfeksi bakteri ini. Hal ini disebabkan karena masih banyaknya penggunaan produk susu sapi, daging sapi, air yang terkontaminasi oleh tinja sapi maupun terkontaminasi oleh tinja manusia yang terinfeksi oleh bakteri ini (Rey *et al*, 2006). Bakri dkk pernah melakukan identifikasi bakteri *E. coli* O157:H7 pada tahun 2010, di wilayah Makasar, dimana sampel diambil dari penderita diare. Sebanyak 28 sampel yang diperiksa didapatkan 9 sampel (32,14%) positif *E. coli* O157:H7 (Bakri. et al, 2010)

Di bidang mikrobiologi identifikasi secara fenotif dapat dilakukan dengan beberapa metode antara lain menggunakan mesin *Vitek 2 Compact* (*Biomereux*) yang merupakan teknologi mesin otomatis di bidang mikrobiologi. Program mesin *Vitek 2 compact* (*Biomereux*) ini menentukan nilai positif atau negatif dengan cara mengukur intensitas cahaya dengan scanner optical (Shetty. et al, 1998; Blondel. et al, 2002).

Kelemahan mesin ini pada identifikasi *E. coli* O157:H7 adalah hasil analisa dari mesin ini hanya menyebutkan *E. coli* O157 saja, tanpa mengidentifikasi antigen H. Untuk dapat mengidentifikasi *E. coli* O157:H7 secara fenotif dapat dilakukan menggunakan media *Sorbitol Mac Conkey Agar* (SMAC), yaitu media selektif dan diferensial untuk *E. coli* O157:H7. Bakteri ini tidak dapat memfermentasi sorbitol sehingga koloni akan tampak berwarna jernih atau tidak berwarna. Hal ini yang membedakan O157:H7 dengan non O157:H7 (Nataro, 1998). Identifikasi menggunakan media SMAC ini merupakan identifikasi yang cepat dan dapat diandalkan, sehingga biaya identifikasi menjadi lebih murah, diagnosa klinis juga dapat ditegakkan dengan cepat (March, 1986)

Identifikasi O157:H7 yang lebih cepat dan murah diperlukan terutama pada spesimen klinis, sehingga tujuan penelitian ini adalah mengetahui karakteristik fenotif *E. coli* O157 dari isolat klinis RSUP Sanglah Denpasar

menggunakan media *Sorbitol Mac Conkey Agar* (SMAC), sehingga dapat mempercepat diagnosis dan terapi.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan

Sampel dalam penelitian ini adalah isolat klinis *E. coli* O157 yang terisolasi dari spesimen klinis tahun 2017, yang teridentifikasi secara fenotif menggunakan mesin *Vitek 2 compact* (Biomerieux). *E. coli* ATCC 8739 digunakan sebagai kontrol.

2.2 Metode

Sampel yang secara fenotif sudah teridentifikasi O157 menggunakan *Vitek 2 Compact* (Biomerieux) dikultur pada media *Sorbitol Mac Conkey Agar* (SMAC) dan *Mac Conkey Agar* (MC). Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pengamatan dilakukan setelah inkubasi selesai.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Hasil

3.1.1 Identifikasi dari mesin *Vitek 2 Compact*

Berdasarkan data laboratorium Mikrobiologi RSUP Sanglah selama tahun 2017, didapatkan 3 isolat klinis yang positif *E. coli* O157. Isolat klinis didapatkan dari sampel urin RSUP Sanglah Denpasar. Data isolat tersebut terangkum dalam tabel 1:

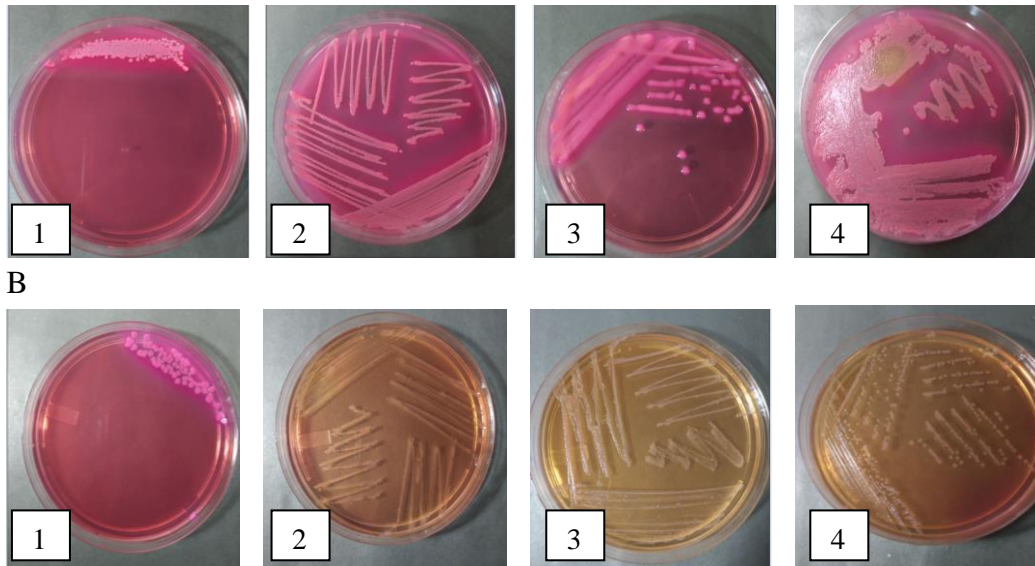
Tabel 1. Hasil *Vitek 2 Compact* pada isolat klinis O157

| No | Kode Sampel | Hasil | Keterangan |
|----|-------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | U141 | <i>Escherichia coli</i> O157 | <i>Highly Pathogenic Organism</i> |
| 2 | U47 | <i>Escherichia coli</i> O157 | <i>Highly Pathogenic Organism</i> |
| 3 | L39 | <i>Escherichia coli</i> O157 | <i>Highly Pathogenic Organism</i> |

3.1.2 Identifikasi Menggunakan Media *Mac Conkey Agar* dan *Sorbitol Mac Conkey Agar*

Hasil identifikasi *E. coli* dari mesin *Vitek 2 Compact* (Biomerieux) dikonfirmasi menggunakan media *Mac Conkey Agar* sebagai pembanding dan *Sorbitol Mac Conkey Agar*. *E. coli* ATCC 8739 digunakan sebagai kontrol untuk penelitian ini. Hasil kultur pada MC dan SMAC ditunjukkan pada gambar 1 dan tabel 2

A



Gambar 1. Karakteristik *Escherichia coli* pada media agar. Pertumbuhan *Escherichia coli* pada media *Mac Conkey Agar* (A), koloni *Escherichia coli* ATCC 8739 (A1), isolat klinis U141 (A2), isolat klinis U47 (A3), isolat klinis L39 (A4). Pertumbuhan pada media *Sorbitol Mac Conkey Agar* (B), *Escherichia coli* ATCC 8739 (B1), isolat klinis U141 (B2), isolat klinis U47 (B3), dan isolat klinis L39 (B4)

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *E. coli* O157 dari *Vitek 2 Compact* yang dikultur pada media MC menunjukkan warna merah muda/pink pada semua isolat sehingga sulit dibedakan. Sedangkan pada media SMAC koloni isolat klinis berwarna jernih/bening, sementara pada kontrol berwarna merah muda/pink.

Tabel 2. Hasil kultur *Escherichia coli* O157:H7 pada media *Mac Conkey Agar* dan *Sorbitol Mac Conkey Agar*

| No. | Kode Sampel | Hasil | |
|-----|-------------|---------------------|---------------------------------|
| | | <i>Mac Conkey</i> | <i>Sorbitol Mac Conkey Agar</i> |
| 1. | ATCC | berwarna merah muda | Berwarna merah muda |
| 2. | U141 | berwarna merah muda | Jernih (tidak berwarna) |
| 3. | U47 | berwarna merah muda | Jernih (tidak berwarna) |
| 4. | L39 | berwarna merah muda | Jernih (tidak berwarna) |

3.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah *E. coli* O157 yang berasal dari isolat klinis yang sudah diidentifikasi menggunakan mesin *Vitek 2 Compact* (*Biomeurex*) tersebut adalah *E. coli* O157:H7 dengan menggunakan media SMAC. Penanaman pada media *Mac Conkey Agar* (MC) baik kontrol maupun isolat klinis menunjukkan warna merah muda/pink, sehingga tidak dapat dibedakan antara kontrol dan isolat klinik *Escherichia coli* O157.

Hasil dari media SMAC menunjukkan koloni warna jernih pada isolat klinis yang menandakan bahwa isolat tersebut tidak memfermentasi sorbitol dan bersifat motil (O157:H7). Tidak seperti kebanyakan strain *Escherichia coli*, serotipe O157:H7 hampir 95% tidak memfermentasi sorbitol, sehingga cara identifikasi sederhana untuk strain ini adalah dengan melakukan kultur pada media *Sorbitol Mac Conkey Agar*. Laktosa yang ada di dalam media *Mac conkey* diganti dengan sorbitol. Media SMAC merupakan media yang selektif untuk mendeteksi *Escherichia coli* serotipe O157:H7. Sorbitol digunakan sebagai penanda atau media isolasi utama dalam mendeteksi *Escherichia coli* O157:H7 (Rappaport, 1952).

Meskipun hampir seluruh isolat *E. coli* O157 tidak memfermentasi sorbitol, sebanyak 5% adalah strain *Escherichia coli* O157 non motil (O157:NM) yang mampu memfermentasi sorbitol. Meskipun bersifat non motil, *E. coli* strain ini juga bersifat patogen dan mampu menginfeksi manusia sejak teridentifikasi di Jerman tahun 1988. Namun demikian *Escherichia coli* O157:NM lebih jarang diisolasi dari sampel manusia dibandingkan *Escherichia coli* O157:H7 (Karch, et al. 2001; Weber, 2011; Alpers, et al, 2009).

SMAC memiliki sensitifitas 100% dan spesifitas 85% untuk mendeteksi *Escherichia coli* O157:H7, dan terbukti menjadi cara yang murah, cepat dan sederhana untuk bakteri serotipe tersebut (March, 1986).

4. Kesimpulan

Secara fenotif seluruh isolat klinis *E. coli* O157 yang digunakan dalam penelitian ini adalah *E. coli* O157:H7 yang diidentifikasi menggunakan media SMAC, sehingga SMAC dapat digunakan sebagai media untuk konfirmasi *E. coli* O157:H7 dari isolat klinis yang ditunjukkan dengan warna jernih/bening.

5. Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Departemen/ KSM Mikrobiologi Klinik FK Unud/RSUP Sanglah dan Instalasi Mikrobiologi Klinik RSUP Sanglah yang telah memberikan tempat untuk melakukan penelitian dan mengizinkan penggunaan sampel dari isolat klinis *E. coli* O157.

Daftar Pustaka

- Alpers, K, Werber, D, Frank, C et al. 2009. Sorbitol-fermenting enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H- causes another outbreak of haemolytic uraemic syndrome in children. *Epidemiol Infect.* ;137: 389–395
- Aranda K.R.S, Fagundes-Neto U, and Scaletsky I.C.A. 2004: Evaluation of Multiplex PCRs for Diagnosis of Infection with Diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. *JCM*.42(12):5849-5853

- Bakri Z; Hatta M; Nasrum M. 2010. Deteksi Keberadaan Bakteri *Escherichia coli* O157:H7 pada Feses penderita diare dengan Metode Kultur dan PCR. *JST Kesehatan*; (5), 2:184-192
- Blondel., HE, Hetchler., D, et al, 2003, Evaluation of Vitek 2 for Analysis of Enterobacteriaceae using the Advance Expert System (AES) versus Interpretive Susceptibility Guideline used at Dynacare Kasper Medical Laboratories, Edmonton, Alberta, *Clinical Microbiology and Infection*, 9(11): 1091-1103
- Chad., I, et al, 2012, Shiga Toxins and the Pathophysiology of Hemolytic Uremic Syndrome in Human and Animal, *Toxin Journal*, 4: 1261-1287
- Center for Disease Control, 1982. Isolation of *E.coli* O157:H7 from sporadic cases of hemorrhagic colitis-United States. *WMWR Morb Mortal Wlky Rep*;31:580-585
- Karch, H and Bielaszewska, M. 2001 Sorbitol-fermenting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H(-) strains: epidemiology, phenotypic and molecular characteristics, and microbiological diagnosis. *J Clin Microbiol*; 39: 2043–2049
- March., SB, Ratnam.,S, et al. 1986. *Sorbitol Mac Conkey* Medium for Detection of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Hemorrhagic Colitis. *J.Clin.Microbiol.* 23:869-872
- Nataro JP,Kaper JB,1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbial Rev* 11:142-201
- Rappaport F., and Henig.E.1952. Media For The Isolation and Defferntiation of Pathogenic *Escherichia coli* Serotypes O111 & O55. *J.Clin.Pathol*; 5:361-362
- Rey, JS. Sanchez, J.E. Blanco. 2006. Prevalence, Serotypes and Virulance genes of *Shiga Toxin Producing Escherichia coli* Isolated From Ovine and Caprine milk and other Dairy Product in Spain. *International Journal of Food Microbiology.* 107(2): 212-217
- Shetty.,N, Hill.,G, Ridgway.,GL, 1998. The Vitek analyser for routine Bacterial Identification and Susceptibility testing: Protocol, Problem and Pitfalls, *J Clin Pathol*; 51:316-323
- Suwito W, 2009. *Escherichia coli* Verotoxigenik diisolasi dari susu sapi. *JIVT* 14(3):237-242
- Werber, D, Bielaszewska, M, Frank, C, Stark, K, and Karch, H. 2011. Watch out for the even eviler cousin-sorbitol-fermenting *E. coli* O157. *Lancet.* ; 377: 298–299