

Identification of *Escherichia coli* Sub Type Enterotoxigenic (ETEC) from Food Samples Using Pcr (Polymerase Chain Reaction) Technique

Deby Anggryani¹, Edy Kurniawan^{1*}, Dhika Juliana Sukmana¹, Jumari Ustiawaty¹

¹Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Mataram, Indonesia;

Article History

Received : August 18th, 2023

Revised : September 07th, 2023

Accepted : September 28th, 2023

*Corresponding Author: **Edy Kurniawan**, Teknologi Laboratorium Medis, Politeknik Medica Farma Husada Mataram, Mataram, Indonesia;
Email: edykurniawanw@yahoo.com

Abstract: *Escherichia coli* is a normal flora of the digestive tract of humans and animals and is important in the digestion of food. This bacteria lives in feces, can cause health problems, such as diarrhea and vomiting. This research was conducted for consideration in the prevention of diarrhea, processing, marketing of food. This study aims to determine the presence of enterotoxigenic *Escherichia coli* sub-type (ETEC) from food samples. This research is an explorative descriptive study, as many as 5 samples from food, food samples taken are food consumed every day and some include traditional food in Mataram City. The samples were cultured on BHI-Broth media, followed by inoculation on Eosin Methylene Blue (EMB) medium and continued with the Gram stain test. Colonies that are metallic green in colour and show the characteristics of *Escherichia coli* bacteria on Gram staining are then carried out for purification of the bacteria on Nutrient Agar (NA) medium, if the classification of bacteria shows the characteristics of *Escherichia coli* bacteria on Gram staining then proceed with the Indole/sugar-test. The results showed that of the 5 food samples isolated, only 1 sample showed positive E.coli bacteria. Then proceed to the PCR (Polymerase Chain Reaction) stage using the qualitative PCR method to determine the presence of Enterotoxigenic *Escherichia coli* sub-type (ETEC) bacteria in food samples. , with a target gene of 237 bp.

Keywords: *Escherichia coli*, food, Polymerase Chain Reaction (PCR).

Pendahuluan

Makanan merupakan kebutuhan pokok yang penting bagi manusia. Dengan demikian, perlu dilakukan penanganan makanan dengan baik dan benar untuk meminimalkan penularan penyakit dari makanan (*Food borne disease*). Penelitian yang dilakukan di beberapa negara industri menunjukkan lebih dari 60% *food borne disease* disebabkan karena buruknya kemampuan penjamah makanan atau *food handler* untuk mengolah makanan (Gitaswari & Budayanti, 2019). *Food borne disease* yang umum dijumpai antara lain yaitu diare, typhus, kolera, dan sebagainya. Berdasarkan Data Dinas Kesehatan Kota Mataram tahun 2009, terdapat 236 kasus diare dan 90% kasus diare disebabkan oleh mikroba (Dikes, 2009).

Bakteri *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri patogen yang menjadi penyebab diare,

dan merupakan spesies utama bakteri Gram negatif flora normal saluran pencernaan manusia dan hewan serta penting dalam pencernaan makanan. Pada umumnya, bakteri ini hidup pada tinja, dan dapat menyebabkan masalah kesehatan, seperti diare, muntaber dan masalah pencernaan lainnya (Titiek, 2007).

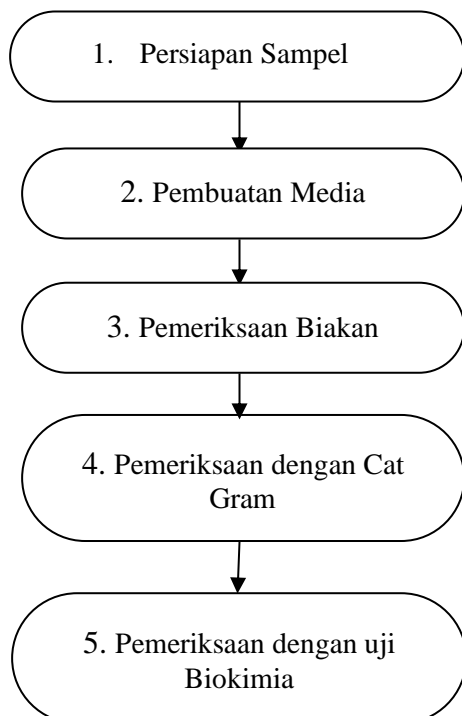
Diare yang disebabkan oleh *E. coli* merupakan kasus yang banyak dialami oleh masyarakat dan memiliki beberapa subtipe. Masing-masing subtipe *Escherichia coli* yang dapat menyebabkan diare dilihat berdasarkan faktor patogenitas spesifik dan fenotipnya. Sub tipe tersebut diantaranya adalah *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC), *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC), *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC), *Enteroadgregative Escherichia coli* (EAEC), *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) , *diffusely adherent Escherichia coli* (DAEC) (Tuhu N, 2010).

Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) adalah salah satu sub tipe E.coli penyebab diare pada pelancong, *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC) jarang menyebabkan diare pada orang dewasa tetapi sering menginfeksi anak-anak di bawah dua tahun, *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) sebagai penyebab diare yang disertai demam, *Enteroaggregative Escherichia coli* (EAEC) sebagai penyebab diare cair pada anak. *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC) sebagai penyebab diare berdarah, *hemorrhagic colitis* berat, dan *hemolytic uremic syndrome* pada 6-8% kasus (Wheeler, 1990).

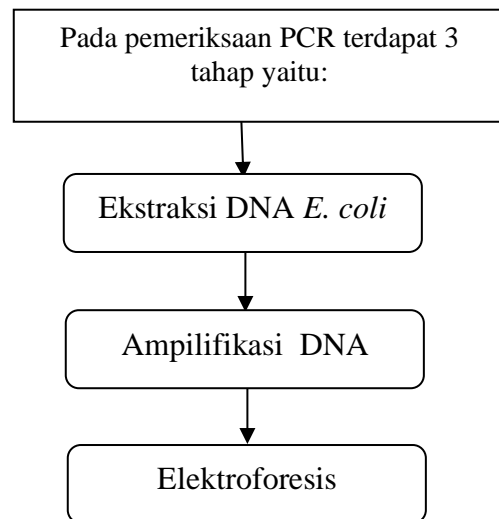
Deteksi adanya ETEC pada sampel makanan dilakukan menggunakan teknik PCR karena akurasi dan spesifisitas hasil pemeriksaan PCR sangat tinggi, walaupun pada sisi yang lain biaya pemeriksaan PCR masih tergolong mahal (Santoso et al., 2013). Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai Analisa Molekuler Identifikasi Bakteri *Escherichia coli sub type enterotoxigenic (ETEC)* dari sampel makanan. Hal ini dilakukan untuk pertimbangan dalam upaya pencegahan diare, pengolahan, pemasaran makanan.

Bahan dan Metode

Pemeriksaan Biakan (Mikrobiologi)



Pemeriksaan teknik analisa molekuler (PCR)



Masukkan pada alat PCR dengan kondisi seperti yang disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Kondisi Pada Mesin PCR

No	Siklus	Suhu
1	Denaturasi	94°C
2	Annealing	55°C
3	Extention	72°C

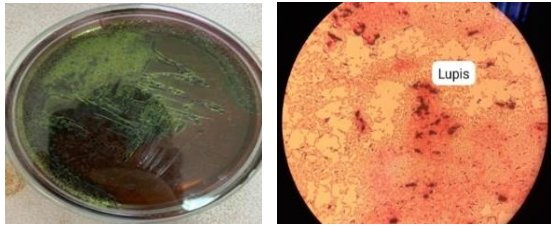
Hasil dan Pembahasan

Hasil Pemeriksaan Mikroskopik

Terdapat perubahan warna sebelum dan sesudah diinkubasi pada media BHI-Broth ini. Media cair seperti BHI-Broth yang berperan sebagai media penyubur akan menunjukkan perubahan warna turbiditas menjadi lebih keruh jika ditumbuhi oleh bakteri setelah masa inkubasi (Soemarno, 2000).

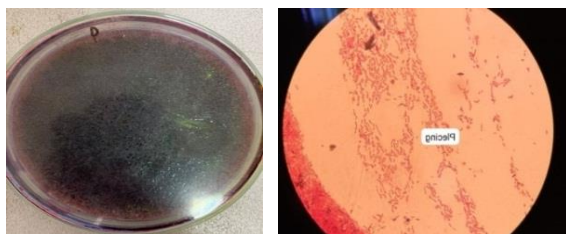


Gambar 1. Pemeriksaan biakan pada media BHI-Broth



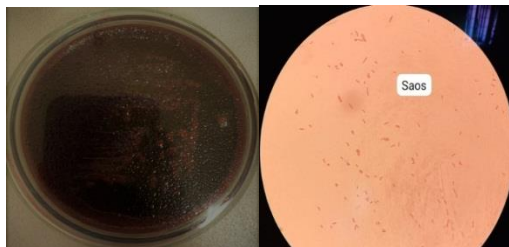
Gambar 2. Pemeriksaan biakan pada media EMB sampel E1

Sampel E1 (Lupis) terdapat pertumbuhan bakteri berwarna hijau metalik dengan morfologi sel berbentuk batang, dan berwarna merah mudah



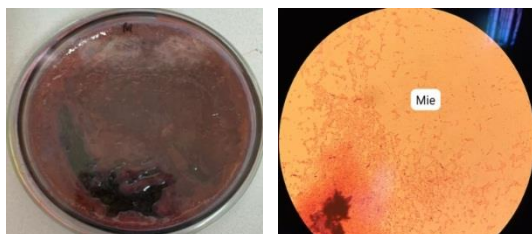
Gambar 3. Pemeriksaan biakan pada media EMB sampel E2

Sampel E2 (Pelecing) terdapat pertumbuhan bakteri berwarna hijau metalik dengan morfologi sel berbentuk batang, dan berwarna merah mudah.



Gambar 4. Pemeriksaan biakan pada media EMB sampel E3

Sampel E3 (Saos) terdapat pertumbuhan bakteri berwarna hijau dengan morfologi sel berbentuk batang, dan berwarna merah mudah.



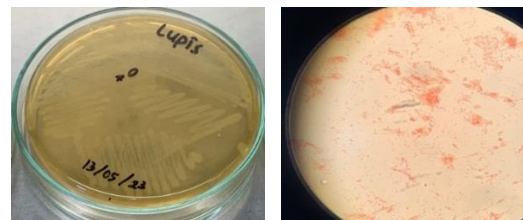
Gambar 5. Pemeriksaan biakan pada media EMB sampel E4

Sampel E4 (Mie) terdapat pertumbuhan bakteri berwarna hijau dengan morfologi sel berbentuk batang, dan berwarna merah mudah.



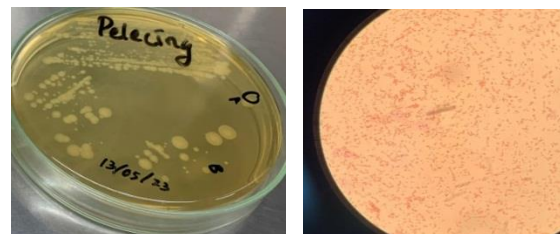
Gambar 6. Pemeriksaan biakan pada media EMB sampel E5

Sampel E5 (Cilok) terdapat pertumbuhan bakteri berwarna hijau dengan morfologi sel berbentuk batang, dan berwarna.



Gambar 7. Pemurnian Koloni Bakteri Suspek *E. coli* Sampel E1

Sampel E1 (Lupis) terdapat warna koloni berwarna putih keruh dan morfologi sel berbentuk batang dan berwarna merah muda.



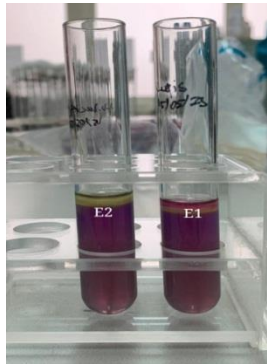
Gambar 8. Pemurnian Koloni Bakteri Suspek *E. coli* Sampel E1

Sampel E2 (Pelecing) terdapat warna koloni berwarna putih keruh dan morfologi sel berbentuk batang dan berwarna merah muda.

Pemeriksaan Indol/gula-gula

Hasil uji Indol/gula-gula, diketahui hasil uji Indol pada 2 sampel terdapat 1 sampel yang positif artinya terbentuk cincin merah yaitu terbentuk cincin merah pada sampel E1, sedangkan pada sampel E2 tidak terbentuk cincin warna merah artinya negative *E. coli*. Keberadaan bakteri *E. coli* pada sampel

makanan dengan penyajian yang kurang higienis sangat potensial terjadi, hasil ini dikuatkan oleh penelitian yang dilakukan oleh Nuryani, D *et al.*, (2016) bahwa sebanyak 71% makanan jajanan di kantin sekolah dicemari oleh bakteri *E. coli*.



Gambar 9. Hasil Uji Indol Sampel E1 dan E2

Hasil Pemeriksaan Molekuler (PCR)

Hasil pada gambar tidak ditemukan gen target, sampel yang digunakan yaitu satu sampel yang sama, sampel dilakukan pengulangan. Dari hasil pemeriksaan Mikrobiologi dan Teknik Analisa Molekuler (PCR), tidak ditemukan bakteri *E.coli* sub type *Enterotoxigenic* (ETEC).



Gambar 10. Hasil Elektroforesis Sampel E1

Pembahasan

Proses pembiakan bakteri hanya terdapat satu (1) sampel yg positif *E.coli* pada sampel lupis (E1), Hal ini dikarekan proses penyajian lupis (E1) berbeda dengan penyajian makanan lain, cara penyajian yang dilakukan menggunakan tangan secara langsung, tempat penjualan yang tidak higienis, dan makanan yang dijual tidak ditutup. Makanan yang dijual di daerah ampenan yang kurang memperhatikan

sanitasi, juga dapat menyebabkan tingginya kontaminasi *E.coli*, berdasarkan penelitian (Wardhana *et al.*, 2021), makanan yang tidak ditutup dan disimpan pada suhu ruang terbuka akan menyebabkan perkembangan bakteri secara cepat. Pencemaran bakteri *E. coli* yang tidak terkendali pada makanan dapat berdampak pada kejadian diare parah hingga kematian pada manusia (Dwiari *et al.*, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh (Anisa *et al.*, 2023), bakteri *Escherichia coli* sering ditemukan pada produk makanan yang disajikan secara tidak higienis, penelitian ini menguatkan hasil penelitian yang telah dilakukan bahwa bakteri ditemukan pada sampel makanan yang penyajiannya tidak higienis dan tidak tertutup.

Isolat bakteri *E. coli* yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan pemeriksaan secara molekuler dengan teknik PCR untuk mengetahui keberadaan ETEC, pada tahap PCR bertujuan untuk menemukan gen target dengan berat molekul 237 bp yang menunjukkan keberadaan dari ETEC (Takahashi *et al.*, 1996). Rangkaian proses PCR yang dilakukan tidak ditemukan pita DNA pada 237 bp. Hal ini karena ETEC biasanya berada pada jenis makanan olahan siap saji seperti *junk food* yang disimpan pada suhu di bawah 4°C selama berbulan-bulan (Widyaistuti dan Almira, 2019). Banyaknya bakteri ETEC dalam *junk food* dipengaruhi oleh suhu, dan kelembaban udara luar, yang penting dalam menentukan viabilitas dari mikroorganisme dalam aerosol berdasarkan percobaan yang telah dilakukan pada bakteri *Serratia marcesens* dan *E.coli* menunjukkan bahwa kelangsungan hidup mikroba udara terkait erat dengan suhu (Trisno K, *et al.*, 2019).

Jenis makanan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu olahan siap saji tidak bertahan lama atau bertahan selama 1 hari jika disimpan. sehingga biasanya makanan yang dibuat hari itu langsung diujakan, pada saat diujakan makanan ini terbungkus oleh daun pisang atau ditutup dengan plastik dan dibuka ketika ada pembeli yang datang. Sehingga hal-hal tersebut meminimalkan risiko makanan untuk kontak dengan udara luar kemungkinan ada aerosol bakteri ETEC. Jenis bakteri yang ditemukan pada penelitian ini adalah bakteri *E.coli* bukan golongan ETEC, dan diindikasikan tergolong ke dalam beberapa tipe *E.coli* lain seperti EPEC, EIEC, EAEC, EHEC.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, ditemukan bakteri *Escherichia coli* pada sampel makanan yang diidentifikasi secara mikroskopik, dan hasil identifikasi secara molekuler menggunakan teknik PCR diperoleh hasil tidak ditemukan bakteri *Escherichia coli* sub type *Enterotoxigenic* (ETEC).

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu suksesnya penelitian ini, khususnya kepada Prodi Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Medica Farma Husada Mataram dan Laboratorium Litbangkes Rumah Sakit Umum Daerah Provinsi NTB.

Referensi

- Amalia, W. (2017). *Analisis Sistem Pengelenggaraan Makanan Dan Hubungan Asupan Energi Dan Zat Gizi Makro Dengan Status Gizi Pada Santri Di Pondok Pesantren Daarul Rahman*. Skripsi Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul.
- Anisa, Y., Y. Hadiatun, N. Hijriani, B., I. (2023). Gambaran Bakteri *Escherichia coli* pada Cincau Hitam dengan Metode MPN di Pasar Kota Malang. *Jurnal Sains Natural*, 1(2), 36-40. DOI: <https://doi.org/10.35746/jsn.v1i2.343>
- Depkes. (2003). *Tentang Pedoman Persyaratan Hygiene Sanitasi Makanan Jajanan*. Dikes Kota Mataram. (2009). *Penderita Penyakit Diare Dikota Mataram Meningkat*. ANTARA NTB
- Gitaswari, D. A. I., & Budayanti, S. (2019). Identifikasi Subtipe Enterotoxigenic *Escherichia coli* Dan Enteroaggregative *Escherichia coli* Dari Spesimen Usap Dubur Penjamah Makanan Di Denpasar Menggunakan Polymerase Chain Reaction. *E-Jurnal Medika Udayana*, 8(1), 7. DOI: <https://doi.org/10.24922/eum.v8i1.45223>
- Nuryani, D., Putra, N, Y., & Sudana, I, B. (2016). Kontaminasi *Escherichia coli* pada Makanan Jajanan di Kantin Sekolah Dasar Negeri Wilayah Denpasar Selatan. *Ecotrophic*, 10 (1), 28-32. URL: <https://ojs.unud.ac.id/index.php/ECOTROPHIC/article/download/21518/14219/>
- Radji, M. (2011). Deteksi Cepat Bakteri *Escherichia Coli* Dalam Sampel Air Dengan Metode Polymerase Chain Reaction Menggunakan Primer 16E1 Dan 16E2. *Makara, Sains*, 14(1), 39–43. URL: <http://journal.ui.ac.id/index.php/science/article/view/474/470>
- Rostini, T., & Rita, C. (2018). Elektroforesis Protein Serum Pasien Dengan Kadar Protein Normal. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*, 15(3), 87. DOI: <https://doi.org/10.24293/ijcpml.v15i3.962>
- Dwiari, S, R., Asadayanti, D, D., Nurhayati., Sofyaningsih, M., Yudhanti, S, F., Yoga, I, B, K, W (2008). *Teknologi Pangan Jilid 1*. Direktorat Pembinaan SMK. Depdiknas
- Soemarno. (2000). *Identifikasi Bakteri Klinik*. Akademi Analis Kesehatan Yogyakarta. Yogyakarta
- Santoso T, J., Hidayat., Herman., dan Sudarsono (2013). Aplikasi Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) Menggunakan Primer Degenerate dan Spesifik Gen AV1 Untuk Mendeteksi Begomovirus Pada Tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *J. Hort. Indonesia* 4(3):140-149. URL: <https://core.ac.uk/download/pdf/295173217.pdf>
- Takahasi Ichiro., Marinaro., Hiroshi Kiyono., Raymond J., Jackson., Nakagawa., Fujihashi., Hamada., John D. Clements., Kenneth L., Bost and Jerry R. McGhee., (1996). Mechanisms for Mucosal Immunogenicity and Adjuvancy of *Escherichia coli* Labile Enterotoxin. *The Journal of Infectious Diseases*. 173 (3). 627-635. URL: <https://www.jstor.org/stable/30126182>
- Titiek. (2007). Cemaran Mikroba Pada Produk Pertanian, Penyakit Yang Ditimbulkan dan Pencegahannya. *Jurnal Litbang Pertanian*, 26(2).
- Trisno, K., Tono, K. P., & Gusti Ketut Suarjana, I. (2019). Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Escherichia Coli* dari Udara pada Rumah Potong Unggas Swasta di Kota Denpasar.

- Indonesia Medicus Veterinus*, 8(5), 2477–6637. DOI: <https://doi.org/10.19087/imv.2019.8.5.685>
- Tuhu, N. (2010). Kemajuan Teknologi Dan Pola Hidup Manusia Dalam Prespektif Social Budaya. *Jurnal Perkembangan Pendidikan: Fondasi Dan Amplikasi*, 2(1), 34–35.
- Wardhana, D. K., Safitri, D. A., Annisa, S., Effendi, M. H., & Harijani, N. (2021). Detection of *Escherichia coli* Contamination using Most Probable Number (MPN) methods in Chicken Meats in Market of Surabaya. *Jurnal Medik Veteriner*, 4(1), 118. DOI: <https://doi.org/10.20473/jmv.vol4.iss1.2021.118-124>
- Wheeler. (1990). *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid 2*. Erlangga.
- Widyastuti dan Almira. (2019). *Higiene Dan Sanitasi Dalam Penyelenggaraan Makanan*. K-Media. Yogyakarta