

5. JURNAL LIFE SCIENCE

by Yulianto Ade Prasetya

Submission date: 07-Feb-2022 11:25AM (UTC+0000)

Submission ID: 1756786531

File name: 2._JURNAL_LIFE_SCIENCE_UNNES.pdf (569.65K)

Word count: 4422

Character count: 27489



DETEKSI FENOTIPIK *Escherichia coli* PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASES* (ESBLs) PADA SAMPEL MAKANAN DI KRIAN SIDOARJO

Yulianto Ade Prasetya[✉], Ike Yuyun Winarsih, Kharisma Aprilia Pratiwi, Merinsa Chorry Hartono, dan Dita Nur Rochimah

Program studi DIII Analis Kesehatan, STIKES Rumah Sakit Anwar Medika Sidoarjo, Jalan Raya by Pass Km.33 Krian Sidoarjo, Jawa Timur 61253

Info Artikel

Diterima: 1 Maret 2019
Disetujui: 30 Maret 2019
Dipublikasikan: 25 April 2019

Keywords:

Escherichia coli, *Extended Spectrum Beta Lactamases*, Fenotipik, Makanan, Sidoarjo, Fenotipic, Food.

Abstract

Escherichia coli is a group of *Enterobacteriaceae* bacteria that often contaminate food so that it can cause diarrhea. These bacteria are very difficult to treat if they are able to produce the *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs) enzyme. The purpose of this study was to identify ESBLs-producing *E. coli* in food samples in Krian Sidoarjo. Food samples (fried foods, cilok tempura and chili sauce) were collected from ten different places. The sample was then grown on Eosin Methylene Blue (EMB) medium and purified by the 16 streak method, as well as biochemical character tests. The ESBLs phenotypic *E. coli* method was carried out by screening test and confirmation test using a Double Disk Synergy Test (DDST). Thirty colonies were able to grow on EMB media, but after microscopic identification and biokimia testing only four samples were *E. coli* positive and were able to produce ESBLs from the phenotypic test that had been carried out. ESBLs-producing *E. coli* testing is important not only for nosocomial infections, but also for the community so it needs attention to the spread of ESBLs resistance among microorganism species.

Abstrak

Escherichia coli termasuk kelompok bakteri *Enterobacteriaceae* yang sering mengkontaminasi makanan sehingga dapat menyebabkan diare. Bakteri ini sangat sulit diobati apabila mampu memproduksi enzim *Extended Spectrum Beta-Lactamases* (ESBLs). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi *E. coli* penghasil ESBLs pada sampel makanan di Krian Sidoarjo. Sampel makanan (gorengan, cilok, tempura, dan saus sambal) dikumpulkan dari sepuluh tempat berbeda. Sampel kemudian ditumbuhkan pada medium *Eosin Metilen Blue* (EMB) dan dimurnikan dengan metode streak 16, serta dilakukan karakteristik uji biokimia. Metode fenotipik *E. coli* penghasil ESBLs dilakukan dengan uji skrining dan uji konfirmasi menggunakan *double disk synergy test* (DDST). Sebanyak tiga puluh koloni mampu tumbuh pada media EMB, namun setelah diidentifikasi mikroskopis dan uji biokimia hanya empat sampel positif *E. coli* dan mampu menghasilkan ESBLs dari uji fenotipik yang telah dilakukan. Pengujian *E. coli* penghasil ESBLs penting dilakukan bukan hanya pada infeksi nosokomial, tetapi juga pada komunitas sehingga perlu mendapat perhatian terhadap penyebaran resistensi ESBLs diantara spesies mikroorganisme

© 2019 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

STIKES Rumah Sakit Anwar Medika Sidoarjo, Jalan Raya By Pass Km.33
Krian Sidoarjo,
E-mail: yuliantoadeprasetya@gmail.com

p-ISSN 2252-6277

e-ISSN 2528-5009

PENDAHULUAN

Makanan sangat penting bagi manusia karena merupakan salah satu kebutuhan pokok untuk kelangsungan hidupnya dan di dalam makanan dan minuman tersebut terkandung senyawa - senyawa yang diperlukan untuk memulihkan dan memperbaiki jaringan tubuh yang rusak, mengatur proses di dalam tubuh, perkembangbiakan dan menghasilkan energi untuk berbagai kepentingan dalam kehidupannya (Supardi, 2009). Makanan yang masuk ke dalam tubuh manusia harus dijaga kualitasnya dari bakteri patogen yang dapat menyebabkan diare salah satunya *Escherichia coli* yang dijadikan sebagai indikator kualitas makanan yang baik. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif, kokobasil dengan ukuran $2.4 \times 0.4 - 0.7 \mu\text{m}$, memiliki flagela petritikus sehingga bersifat motil, dan tidak dapat membentuk spora (Jawetz *et al.*, 2008).

Bakteri ini termasuk flora normal manusia, namun dapat menyebabkan penyakit yang serius seperti *hemolytic uremic syndrome* (HUS), *hemorrhagic colitis* (HC), keracunan makanan, dan diare (Hemeg, 2018). Bakteri ini menyebabkan infeksi saluran pencernaan manusia mencapai lebih dari delapan juta penduduk Amerika dengan 0.1 juta kasus pertahun mengakibatkan sepsis (Jan *et al.*, 2009). *E. coli* sering mengkontaminasi makanan dan minuman sehingga dijadikan sebagai indikator pencemaran bakteri patogen untuk konsumsi manusia. Makanan ringan seperti cilok, tempura, dan gorengan merupakan makanan yang sering dikonsumsi oleh penduduk perkotaan untuk menghilangkan rasa lapar secara sementara. Disamping itu, *E. coli* juga sering sulit dalam hal pengobatan infeksi karena kemampuannya dalam memproduksi enzim *extended spectrum beta lactamases* (ESBLs) (Prasetya, 2017). ESBLs merupakan enzim yang mampu menghidrolisis antibiotik golongan beta laktam generasi ketiga, dan keempat, serta monobaktam (*aztreonam*) (Prasetya, 2018).

Escherichia coli menduduki peringkat pertama dalam kelompok *Enterobacteriaceae* penghasil ESBLs sehingga bertanggungjawab terhadap peningkatan biaya perawatan, angka kesakitan, dan angka kematian (Prasetya, 2018). *E. coli* penghasil ESBLs sering ditemukan di Rumah Sakit terkait infeksi nosokomial, namun jarang sekali dilakukan penelitian keberadaan bakteri ini dalam memproduksi ESBLs pada infeksi komunitas. Penelitian Hemeg (2018) menjelaskan bahwa *E. coli* yang multiresisten terhadap antibiotik mampu mengkontaminasi makanan dan menularkan gen resistensi dan gen toksinnya ke bakteri lain secara transfer horizontal. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs) secara fenotipik dari sampel makanan di Krian, Sidoarjo. *E. coli* yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari sampel makanan kemudian dilakukan skrining dan konfirmasi ESBLs dengan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST).

METODE

Sampel

Sebanyak sepuluh (10) tempat berbeda di Krian Sidoarjo berhasil terkumpul tiga puluh (30) sampel makanan berupa cilok, gorengan, dan tempura termasuk saus sambal. Sampel yang didapatkan

segera dipreparasi di ³³ Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi STIKES Rumah Sakit Anwar Medika Sidoarjo.

Isolasi *Escherichia coli* dari sampel

Sampel makanan yang diperoleh ditimbang sebanyak 20 gram, kemudian dihaluskan menggunakan blender dan dilarut homogenkan dengan 180 ml aquadest steril dalam Erlenmeyer. Sebanyak 1 ml dari campuran tersebut diambil dan dilarut homogenkan kembali dengan 99 ml aquadest steril. Mengambil 1 ml (10-3) dan 0.1 ml (10-4) campuran tersebut dan diinokulasikan dalam medium *Eosin Methylen Blue* (EMB). Satu ml pada larutan tersebut diambil lagi dan dilarutkan dalam 9 ml aquadest steril. Pada larutan terakhir tersebut diambil sebanyak 1 ml (10-5) dan 0.1 ml (10-6) kemudian diinokulasikan pada agar EMB di cawan Petri. Semua sampel yang diinokulasikan pada agar EMB ³⁵ diinkubasi selama 24 jam suhu 370C kemudian diamati. Koloni berwarna hijau metalik yang terbentuk merupakan indikasi adanya *E. coli* pada sampel tersebut. Koloni yang tumbuh tersebut diinokulasikan pada medium *Nutrient agar* (NA) untuk identifikasi karakter biokimianya.

Identifikasi *Escherichia coli*

Identifikasi *E. coli* dilakukan melalui pewarnaan Gram dan berbagai uji karakteristik biokimia yang ditunjukkan pada Tabel 1 sesuai dengan *Bergeys Manual Determinative of Bacteriology*. Uji karakteristik biokimia yang dilakukan antara lain pewarnaan Gram, motilitas, pewarnaan spora, katalase, MR-VP, Indol, dan Fermentasi Karbohidrat (Glukosa, Laktosa, dan Sukrosa) (Brown, 2011).

Pewarnaan Gram

Preparat apusan dibuat dengan menginokulasikan satu ose koloni pada gelas obyek yang sudah ditetesi dengan aquadest steril kemudian digeser-geserkan hingga membentuk lingkaran seperti uang logam. Preparat kemudian dialirkan diatas api bunsen hingga air mengering. Preparat apusan yang sudah dibuat kemudian ditetesi dengan pewarna dasar Kristal violet, biarkan 1-2 menit lalu dicuci kelebihan pewarna dengan air mengalir secara hati-hati. Apusan ditetesi dengan lugol atau iodine, biarkan 1-2 menit ²⁴ dibuang kelebihan reagen, jangan dicuci dengan air lalu direndam apusan dalam alkohol 96% selama 30 detik dan dicuci apusan dengan air mengalir secara hati-hati kemudian diwararnai dengan safranin didiamkan selama 1 menit sebagai pewarna pembanding lalu dicuci kembali safranin yang berlebihan dengan air mengalir dan langkah terakhir preparat yang sudah dicuci dikeringkan dan amati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi (Brown, 2011).

Uji Motilitas

Uji Motilitas dilakukan dengan menginokulasikan inokulum menggunakan jarum tanam tajam secara tegak lurus ke dalam media agar tegak SIM (*Sulfide Indol Motility*). Usahakan jarum tanam tajam jangan sampai menyentuh dasar tabung reaksi. Biakan kemudian diinkubasi selama 24 jam suhu 370C. Adanya koloni biakan diatas permukaan medium menandakan bahwa bakteri tersebut motil/ bergerak (Brown, 2011).

Uji Katalase

Sebanyak satu ose koloni yang tumbuh diinokulasikan pada gelas obyek steril. Teteskan larutan hidrogen peroksida (H₂O₂) 3% sebanyak 1 tetes pada gelas obyek tersebut. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung gas (Brown, 2011).

Uji Indol

Uji Indol dilakukan dengan menyiapkan media agar miring SIM pada tabung reaksi. Inokulasikan bakteri sebanyak satu ose dalam tabung reaksi yang berisi media SIM tersebut. Inkubasikan biakan selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu ditetesi dengan pereaksi kovac sebanyak 10 tetes lalu dikocok secara perlahan dan diamati warna yang terjadi (Brown, 2011).

Uji Metil Merah

Uji Metil Merah dilakukan dengan menyiapkan kaldu *Metil Red-Voges Proskauer* (MR-VP) dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL. Satu ose koloni diinokulasikan dalam medium MR-VP dengan jarum ose secara aseptik dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Kemudian biakan ditambahkan sebanyak lima tetes indikator metil merah lalu diamati perubahan warna yang terjadi setelah 15 menit (Brown, 2011).

Uji Voges Proskauer

Uji Voges Proskauer dilakukan dengan menyiapkan kaldu MR-VP dalam tabung reaksi sebanyak 5 mL. Satu ose koloni diinokulasikan dalam medium MR-VP dengan jarum ose secara aseptik dan diinkubasi biakan selama 24 jam pada suhu 37°C. Biakan kemudian ditambahkan sebanyak 10 tetes reagen Barrit dan kocok perlahan kemudian biarkan 15 menit lalu diamati (Brown, 2011).

Uji Penggunaan Sitrat

Uji penggunaan sitrat dilakukan dengan menyiapkan medium agar miring Simmon Sitrat pada tabung reaksi. Inokulasikan biakan kedalam media dengan jarum ose secara aseptik dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C kemudian diamati. Adanya koloni berwarna biru menandakan bakteri tersebut mampu menggunakan sitrat sebagai sumber energi (Brown, 2011).

Uji Urease

Uji urease dilakukan dengan menggunakan media kaldu *urease* yang telah diinokulasikan sebanyak 1 (satu) ose koloni. Biakan kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Adanya warna media yang berubah dari kuning menjadi pink menandakan bahwa bakteri mempunyai enzim urease (Brown, 2011).

Skrining *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs)

Escherichia coli yang berhasil diidentifikasi selanjutnya dilakukan *screening* sesuai dengan kriteria *National Committee for Clinical Laboratory Standart* (NCCLS). *E. coli* ditumbuhkan dengan teknik *swab* pada medium *Mueller Hinton Agar* (MHA) kemudian diberi antibiotik pada kertas cakram. Empat antibiotik yang digunakan yakni *Ceftazidime* (CAZ) 10 µg, *Ceftriaxone* (CRO) 30 µg, *Cefotaxime* (CTX) 5 µg, dan *Cefpodoxime* (CFX) 10 µg. Zona hambat yang positif menghasilkan ESBLs pada uji konfirmasi yakni CAZ

≤ 22 mm, CRO ≤ 23 mm, CTX ≤ 21 mm, dan CFX ≤ 21 mm. *E. coli* yang positif pada uji *screening* dilanjutkan dengan uji konfirmasi (Hemeg, 2010).

Uji Konfirmasi *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs)

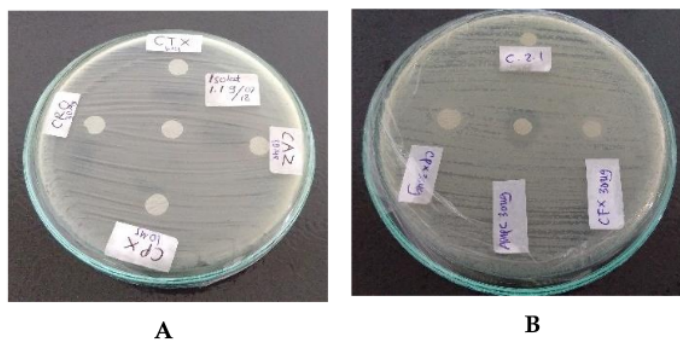
Konfirmasi *E. coli* penghasil ESBLs dilakukan dengan metode *Double Disk Synergy Test* (DDST) sesuai dengan kriteria NCCLS. *E.coli* yang positif pada uji skrining ditumbuhkan pada media MHA dengan teknik *swab* dan diletakkan dengan kertas cakram dengan jarak 20 mm dimana *disk* bagian tengah diberi antibiotik amoksisilin dan asam klavulanat (20 µg:10 µg) sedangkan pada bagian samping diletakkan *Cefotaxime* dan *Cefodopime* masing-masing 30 µg. Adanya zona hambat yang tersambung di sekeliling cakram antibiotik antar satu dengan yang lain menunjukkan positif *Escherichia coli* penghasil *Extended Spectrum Beta Lactamases* (ESBLs) (Hemeg, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak tiga puluh sampel makanan yang diperoleh, terdapat delapan isolat yang positif *Escherichia coli* (Tabel 1). Kedelapan isolat yang positif *E.coli* selanjutnya dilakukan uji skrining (Gambar 1) dan konfirmasi (Gambar 2) adanya enzim *extended spectrum beta lactamases* (ESBLs) dan diperoleh empat isolat *E.coli* positif ESBLs yakni isolat C1.1., C1.3, C.2.1, C.3.3.

Tabel 1 Karakteristik Biokimia *Escherichia coli* dari sampel Makanan di Krian, Sidoarjo

No.	Karakteristik Biokimia	Kode Isolat			
		C1.1	C 1.3	C2.1	C3.3
1	Gram Negatif	+	+	+	+
2	Motilitas	+	+	+	+
3	Spora	-	-	-	-
4	Katalase	+	+	+	+
5	Indol	+	+	+	+
6	MR	+	+	+	+
7	VP	-	-	-	-
8	Fermentasi Glukosa	+	+	+	+
9	Fermentasi Laktosa	+	+	+	+
10	Fermentasi Sukrosa	-	-	-	-



Gambar 1. Hasil uji skring (A) dan konfirmasi *Escherichia coli* penghasil ESBLs dengan metode DDST (B)

Adanya bakteri *Escherchia coli* pada sampel makanan di Sidoarjo menunjukkan bahwa makanan tersebut telah terkontaminasi oleh faeces manusia, dimana bakteri ini merupakan flora normal di usus besar manusia (Hemeg, 2011). Selain itu, adanya bakteri ini juga memungkinkan adanya bakteri patogen lain yang ada dalam makanan dan mampu menyebabkan penyakit pada manusia salah satunya diare (Jawetz *et al.*, 2008). Penyakit diare masih menjadi masalah kesehatan masyarakat di negara Indonesia. Survei morbiditas yang dilakukan Departemen Kesehatan dari tahun 2000-2010 kecenderungan insidensi naik. Pada tahun 2000 insidensi rata-rata penyakit diare 301/1000 penduduk, tahun 2003 naik menjadi 374/1000 penduduk, tahun 2006 naik menjadi 423/1000 penduduk dan tahun 2010 menjadi 411/1000 penduduk (Dinas Kesehatan, 2014).

Data survei Dinas Kesehatan Sidoarjo pada tahun 2013 menyatakan 10 penyakit terbanyak yang menyerang warga Sidoarjo diantaranya ialah diare yang merupakan masuk dalam kategori urutan ke - 5 setelah ISPA, penyakit otot, tukak lambung dan Influenza. Sebanyak 3242 jiwa terserang diare dan gastroenteritis dimana kebanyakan disebabkan oleh bakteri enterik. Penyakit Diare masih merupakan salah satu penyebab kematian bayi dan Balita di Sidoarjo. Jumlah kasus Diare pada Balita yang ditangani pada tahun 2014 adalah 77.296 menurun dibanding tahun 2013 kasus dimana kesemuanya 100% ditangani (Ryan, 2012). Makanan yang diisolasi membuktikan bahwa para penjual makanan ringan seperti cilok, gorengan, dan tempura belum memenuhi higienitas dan sanitasi lingkungan. *E. coli* ini diklasifikasikan oleh ciri khas virulensinya dan setiap grup menimbulkan penyakit melalui mekanisme yang berbeda menurut Jawetz *et al.* (2008) terbagi dalam lima grup yakni *E. coli* Enteropatogenik (EPEC), *E. coli* Enterotoksigenik (ETEC), *E. coli* Enterohaemoragik (EHEC), *E. coli* Enteroinvasif (EIEC), *E. coli* Enteroagregatif (EAEC).

Penyebab penting diare pada bayi, khususnya di negara berkembang. EPEC melekat pada sel mukosa yang kecil. Faktor yang diperantarai oleh kromosom menimbulkan perlekatan yang kuat. Akibat dari infeksi EPEC adalah diare cair yang biasanya sembuh sendiri tetapi dapat juga kronik. Lamanya diare EPEC dapat diperpendek dengan pemberian antibiotik. Diare ini sering terjadi pada manusia, kelinci, anjing, kucing, dan kuda. Seperti ETEC, EPEC juga menyebabkan diare tetapi mekanisme molekular dari kolonisasi dan etiologinya berbeda. EPEC memiliki sedikit fimbria, ST dan LT toksin, tetapi EPEC menggunakan adhesin yang dikenal sebagai inti untuk mengikat sel inang di usus. Sel EPEC bersifat invasif (jika memasuki sel inang) dan menyebabkan radang. Penyebab diare wisatawan dan sering menyebabkan diare pada bayi di negara berkembang. Faktor kolonisasi ETEC yang spesifik untuk menimbulkan perlekatan ETEC pada sel epitel usus kecil. Lumen usus terengang oleh cairan dan mengakibatkan hipermortilitas serta diare, dan berlangsung selama beberapa hari. Beberapa strain ETEC menghasilkan eksotoksin tidak tahan panas.

Profilaksis dengan antimikroba dapat efektif tetapi bisa menimbulkan peningkatan resistensi antibiotik pada bakteri ini. Ketika timbul diare, pemberian antibiotik dapat secara efektif mempersingkat lamanya penyakit. Diare tanpa disertai demam ini terjadi pada manusia, babi, domba, kambing, kuda, anjing, dan sapi. ETEC menggunakan fimbrial adhesi (penonjolan dari dinding sel bakteri) untuk mengikat sel – sel enterosit di usus halus. ETEC dapat memproduksi dua protein enterotoksin yang lebih

besar, LT enterotoksin memiliki struktur dan fungsi yang sama dengan toksin kolera dan ST enterotoksin menyebabkan akumulasi cGMP pada sel target dan elektrolit serta cairan sekresi berikutnya ke lumen usus. Strain ETEC ini tidak invasif dan tidak menetap pada lumen usus. *E.coli Enterohaemorrhagik* (EHEC) menghasilkan verotoksin, dinamai sesuai efek sitotoksinya pada sel Vero, suatu sel hijau dari kera hijau Afrika. Sedikitnya terdapat dua bentuk antigenic dari toksin. EHEC berhubungan dengan holitis hemoragik, bentuk diare yang berat dan dengan sindroma uremia hemolitik, suatu penyakit akibat gagal ginjal akut, anemia hemolitik mikroangiopatik, dan trombositopenia. Banyak kasus EHEC dapat dicegah dengan memasak daging sampai matang. Diare ini ditemukan pada manusia, sapi dan kambing. *E.coli* Enteroinvasif (EIEC) menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan shigellosis. Penyakit ini sangat mirip dengan shigellosis. Penyakit ini sering terjadi pada anak-anak di negara berkembang dan para wisatawan yang menuju ke negara tersebut. EIEC melakukan fermentasi laktosa dengan lambat dan non-motil. EIEC menimbulkan penyakit melalui invasinya ke sel epitel mukosa usus. Diare ini ditemukan hanya pada manusia. *E.coli* Enteroagregatif (EAEC) menyebabkan diare akut dan kronik pada masyarakat di negara berkembang. Bakteri ini ditandai dengan pola khas perlekatannya pada sel manusia. EAEC memproduksi hemolisin dan ST enterotoksin yang sama dengan ETEC

Pada uji biokimia menunjukkan bahwa *Escherichia coli* termasuk bakteri Gram negatif. Hal ini ditandai dengan warna merah dari safranin pada pengamatan mikroskopis. Gram negatif memiliki ciri yakni lapisan peptidoglikan yang tipis dibandingkan bakteri Gram positif. Dinding sel pada *Enterobacteriaceae* termasuk *Escherichia coli* terdiri dari membran dalam sitoplasmik dan membran luar yang mengandung lipopolisakarida (LPS) & lipoprotein. LPS terdiri dari lipid A, polisakarida dan antigen O. Periplasmik merupakan celah antara membran sitoplasmik dalam dan membran luar lipid. Celah ini mengandung rantai peptidoglikan yang ditemukan pada bakteri Gram positif, sedangkan pada Gram negatif lebih sedikit mengandung peptidoglikan (Lovering *et al.*, 2005).

Peptidoglikan merupakan komponen esensial untuk dinding sel bakteri. Komponen ini memproteksi organisme dari tekanan osmotik, menentukan bentuk sel dan berintegrasi dengan pertumbuhan sel. Peptidoglikan (disebut juga murein) merupakan polimer (molekul besar) yang terdiri atas perulangan disakarida yang tersusun atas monosakarida *N-acetylglucosamine* (NAG) dan *N-acetylmuramic acid* (NAM). NAG dan NAM melekat pada suatu peptida yang terdiri dari 4 atau 5 asam amino yaitu L-alanin, D-alanin, asam D-glutamat, L-lisin atau asam diaminopimelat, dan membentuk selubung mengelilingi sel. Pada struktur dinding sel bakteri ini ditemukan konfigurasi D-asam amino yang berbeda dengan konfigurasi asam amino di alam yang umumnya dalam bentuk L. NAM dan NAG saling berikatan dalam ikatan β -1-4-glukosida, dan membentuk rantai yang disebut tetrapeptida (Pratiwi, 2008). Bakteri ini dapat diwarnai dengan kital violet dan lugol tetapi dengan alkohol 96% pewarna akan luntur karena lapisan dinding sel yang bermuatan positif mengikat pewarna yang bermuatan negatif tidak terlalu kuat karena lapisan peptidoglikan yang tipis. Sehingga bila diberikan warna sekunder yakni safranin akan terwarnai pada pengamatan mikroskopis.

Uji motilitas dengan agar SIM menunjukkan bahwa bakteri memiliki flagela yang ditandai adanya koloni dari bawah menuju atas. Bakteri ini memiliki flagela petritikus yakni flagela yang menjulur

ke seluruh permukaan bakteri. Katalase merupakan enzim yang mengkatalisis penguraian hidrogen peroksida menjadi hidrogen dan oksigen karena bahan ini mampu menonaktifkan enzim dalam sel bakteri. Hidrogen peroksida terbentuk pada saat metabolisme aerob. Pada uji hidrogen peroksida menunjukkan bahwa bakteri ini memiliki enzim tersebut. Pada uji indol membuktikan bahwa *E.coli* mampu menghasilkan enzim *tryptophase* dengan mengubah asam amino triptofan dalam medium SIM menjadi Indol, amoniak, dan asam piruvat secara deaminasi dimana dimetilaminobenzaldehid (komposisi pada reagen Kovac) akan bereaksi dengan indol menjadi quinoidal merah. Uji Metil merah digunakan untuk membuktikan bakteri mampu memfermentasi glukosa menjadi produk asam (asam laktat, asam asetat, dan asam formiat) sedangkan uji Voges Proskauer digunakan untuk membuktikan bahwa glukosa dapat diubah menjadi asam karbionol. Pada uji Sitrat juga membuktikan bahwa bakteri ini mampu menggunakan sumber karbon selain glukosa yakni sitrat. Pada uji fermentasi karbohidrat menunjukkan bahwa bakteri ini mampu memfermentasikan laktosa dan glukosa.

Sebanyak delapan isolat yang didapat empat diantaranya (50%) mampu memproduksi enzim *extended spectrum beta lactamases* (ESBLs). Mekanisme kerja dari antibiotik golongan beta laktam yaitu dengan mencegah ikatan silang peptidoglikan pada tahap akhir sintesis dinding sel, yaitu dengan cara menghambat protein pengikat penisilin (*penicillin binding protein*). Protein ini merupakan enzim dalam membran plasma sel bakteri yang secara normal terlibat dalam penambahan asam amino yang berikatan silang dengan peptidoglikan dinding sel bakteri, dan mengeblok aktivitas enzim transpeptidase yang membungkus ikatan silang polimer-polimer gula panjang yang membentuk dinding sel bakteri sehingga dinding sel menjadi rapuh dan mudah lisis (Pratiwi, 2008). Adanya bakteri penghasil ESBLs perlu mendapat perhatian dikarenakan semakin sedikit pilihan antibiotik yang digunakan untuk terapi infeksi yang disebabkan oleh *E.coli* penghasil ESBLs (Prasetya, 2018). Kejadian infeksi sekitar 80% disebabkan oleh *E.coli* (Ahmed & Draugon, 2015).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa adanya kemiripan genetik antara isolat *E.coli* yang berasal dari *urinary tract infections* (UTIs) dengan isolat yang berasal dari ayam dan makanan. Hal ini menandakan bahwa gen ESBLs yang terdapat di plasmid mampu mentransferkan ke bakteri lain (Centikaya *et al.*, 2014). Gen pengkode enzim ESBLs biasanya terdapat pada plasmid dan dapat ditransferkan dan umumnya melalui proses konjugasi (Ahmed & Draugon, 2015). Plasmid R terdapat gen yang menyebabkan bakteri resisten terhadap antibiotik (Prasetya, 2018). Selain itu juga mengandung gen resistensi lain seperti logam berat dan toksin. Selain dikode oleh plasmid, pengnonaktifan antibiotik beta laktam dapat juga melalui berbagai cara yakni modifikasi atau perubahan pada protein pengikat penisilin/*penicillin binding proteins* (PBPs), berkurangnya ekspresi membran luar protein/*outer membrane proteins* (OMPs), dan aktifnya pompa *efflux* yang mentransport antibiotik dari dan ke dalam sel untuk keluar lingkungan sel. PBPs terbagi dalam dua subgrup yaitu enzim dengan berat molekular rendah/*low molecular mass* (LMM) dan berat molekular tinggi/*high molecular mass* (HMM).

Enzim HMM masuk dalam dua subdivisi yaitu enzim kelas A dengan dua fungsional dan enzim kelas B *transpeptidase* monofungsional (Lovering *et al.*, 2005). Perubahan pada PBPs terjadi baik pada bakteri Gram negatif dan Gram positif, namun yang memiliki peranan penting adalah bakteri Gram

positif. Ada beberapa mekanisme yang memperantai perubahan PBPs pada resistensi β -laktam, yakni *Point mutations* yang membuat perubahan pada asam amino. Pada *E.coli*, sedikitnya ada tiga asam amino yang berubah termasuk domain *transpeptidase* PBP3, yang membuat sedikitnya tujuh bentuk resistensi terhadap sefalosporin tapi tidak untuk antibiotik lain seperti sefalosporin, penisillin dan monobaktam. Modifikasi asam amino pada satu atau dua enzim mempunyai efek yang kecil terhadap level resistensi. Mutasi pada PBPs 1A, 2B dan 2X memainkan peranan penting pada perkembangan resistensi antibiotik β -laktam pada *S. pneumoniae* (Sanbongi *et al.*, 2004).

Selain itu, adanya resistensi lain dari modifikasi PBP selain resisten terhadap antibiotik β -laktam misalnya modifikasi pada PBP2a dari *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* yang membuatnya resisten terhadap antibiotik β -laktam dan rekombinasi antara PBPs yang peka dan PBPs yang sedikit peka. Protein hibrida ini berasal dari rekombinasi homolog antar spesies, sehingga membuatnya sedikit rentan/peka terhadap antibiotik β -laktam (Jawetz *et al.*, 2008). Membran luar bakteri Gram negatif memainkan peranan penting sebagai penghalang/*barrier* terhadap berdifusinya senyawa hidrofilik dan interaksi dengan lingkungan luar bakteri. Pada bakteri Gram positif hal ini dapat dengan mudah mencapai membran sitoplasmik, sedangkan pada Gram negatif dilakukan oleh protein channel yang terdapat pada membran luar bakteri yaitu porins (Nikaido, 2003).

Porin dibagi dalam dua kelas yaitu spesifik dan non-spesifik. Pada *E.coli*, OMPc dan OMPf mewakili porin yang non spesifik dimana molekul polar kecil dapat berdifusi. Kehilangan salah satu porin akan berhubungan dengan resistensi antibiotik (Nikaido, 2003). Pada *Klebsiella sp.*, OMPk36, OMPk35 dan OMPk34 homolog dengan OMPc, OMPa dan OMPf (Martinez *et al.*, 2005). Perubahan membran luar pada *K.pneumoniae* tidak menentukan faktor dalam meningkatkan resistensi terhadap agen antimikroba, tetapi kehilangan porin dan ditambah dengan adanya produksi enzim β -laktamase akan meningkatkan ketahanan terhadap antibiotik β -laktam (Conejo *et al.*, 2000). Mekanisme yang ketiga yang melibatkan resistensi terhadap antibiotik β -laktam yaitu ekspresi dari pompa *efflux*. Pada protein transport, antibiotik dipompa dari dalam sel ke luar lingkungan sel. Karakteristik dari pompa ini terdiri dari bermacam-macam molekul transport, termasuk spesifisitas substratnya. Sistem multidrug *efflux* ini memainkan peranan penting dalam mekanisme resistensi pada bakteri Gram negatif (Poole, 2004; Nikaido, 2003). *Efflux* pertama kali dideskripsikan sebagai mekanisme resistensi terhadap penisilin pada *Escherichia coli* (Poole, 2004).

Sistem *efflux* pada bakteri mampu mengakomodasi antimikrobia secara umum yang terbagi dalam lima kelas yaitu *major facilitator (MF) superfamily*, *the ATP-binding cassette (ABC) family*, *the resistance-nodulation-division (RND) family*, *the small multidrug resistance (SMR) family* dan *the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family* (Poole, 2004). *Extended-spectrum beta-lactamase* paling banyak dihasilkan dari *point mutations* dari gen *blaTEM*, *blaSHV*, dan *blaCTX-M* dari urutan asam amino primer (Paterson & Bonomo, 2005). Mutasi ini biasanya terjadi pada posisi 104 (TEM), 146 (SHV), 156 (SHV), 164 (TEM), 167 (CTX-M), 169 (SHV), 179 (SHV and TEM), 205 (TEM), 237 (TEM), 238 (SHV and TEM) and 240 (TEM, SHV and CTX-M) (Gniadkowski, 2008). Banyak organisme yang termasuk ESBLs juga resisten

terhadap antibiotik kelas lain seperti *aminoglycosides*, *fluoroquinolone*, *tetracycline*, *chloramphenicol*, dan *sulfonamides* (Bonnet, 2004).

7 SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa sebanyak empat isolat (50%) merupakan *Escherichia coli* penghasil ESBLs dari delapan isolat *E. coli* yang diisolasi dari sampel makanan di Krian Sidoarjo. Deteksi genotipik perlu dilakukan untuk penelitian selanjutnya untuk menentukan gen ESBLs karena perbedaan gen ESBLs juga menunjukkan resistensi yang berbeda terhadap antibiotik. Adanya makanan yang terkontaminasi *E. coli* ESBLs perlu diwaspadai karena gen resistensi dapat ditransfer ke spesies mikroorganisme lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, O & Draughon, F. (2015). The Occurance of *Listeria monocytogenes* in retail ready to meat and poultry products related to the levels of acetate and lactate in the product. *Food Control*, 52(1), 43-48.
- Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(1), 1-14.
- Brown A. (2011). *Benson: Microbiological Application Lab Manual Eight Edition*. The McGraw-Hill Companies.
- Centinkaya, F., Mus, T., Yibar, A., Guclu, N., Tavsanli & Cibik, R. (2014). Prevalence, serotype identification by multiplex polymerase chain reaction and antimicrobial resistance pattern of *Listeria monocytogenes* isolate from retail food. *Journal Food Saf*, 34(2), 42-49.
- Conejo, C.D., Domenech-Sanchez, A., Martinez-Martinez, L., Hernandez-Alles, S., M., Pascual, A., & Tomas, J. M. (2003). Role of *K. pneumoniae* OmpK35 porin in antimicrobial resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 47(x), 3332-3335.
- Hemeg, H.A. (2018). Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* isolates recovered from food samples and outpatient Clinics, KSA. *Saudi Journal of Biological Science*, 25(1), 928-931.
- Jawetz, Melnick & Adelberg. (2008). *Medical Microbiology 24th*. The McGraw-Hill Companies Inc.
- Lovering, A. L., Wilke, M. & Strynadka, N. C. (2005). β -lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. *Curr Opin Microbiol*, 8(1), 525-533.
- Martinez, L., Mammeri, H., Van De Loo, M., Poirel, L. & Nordmann, P. (2005). Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *E. coli* in Europe. *Antimicrob Agents Chemother*, 49(1), 71-76.
- Nikaido, H. (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology Molecular Biology Review*, 67(2), 593-656.
- Peterson, D.L & Bonomo, R.A. (2005). Extended-Spectrum β -Lactamases: A Clinical Update. *Clinical Microbiology Review*, 25(1), 657-686.
- Poole, K. (2004). Efflux-mediated multiresistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology Infections*, 10(1), 12-26.
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Penerbit Erlangga: Jakarta.
- Prasetya Y.A. (2018). Deteksi Gen SHV pada Isolat Klinik *Escherichia Coli* Penghasil Extended Spectrum Beta – Lactamases (ESBLs) dengan Metode *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dari urin pasien. *Al Kauniyah Journal*, 11(2), 91–98.
- Prasetya, Y.A. (2017). Identifikasi Gen CTX-M pada *Escherichia coli* penghasil Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs) di RSUD Dr. Soetomo Surabaya. *Jurnal Teknologi Laboratorium*, 4(2), 58-60.
- Ryan, F. (2012). Deteksi Jajanan Pasar Cincau Hitam Di Pasar Tradisional dan Swalayan Kota Bandar Lampung. *Medical Journal of Lampung University*.

- Sanbongi, Y., Ida, T., Ishikawa, M., Osaki, Y., Kataoka, H., & Suzuki, T. (2004). Complete sequences of six penicillin-binding protein genes from 40 *Streptococcus pneumoniae* clinical isolates collected in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(2), 2244-2250.
- Supardi, I. (2009). *Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Penerbit Alumni: Bandung.

5. JURNAL LIFE SCIENCE

ORIGINALITY REPORT

22%

SIMILARITY INDEX

20%

INTERNET SOURCES

5%

PUBLICATIONS

9%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	media.neliti.com Internet Source	1%
2	100makalah.blogspot.com Internet Source	1%
3	repository.uinjkt.ac.id Internet Source	1%
4	ejurnal.esaunggul.ac.id Internet Source	1%
5	www.sridianti.com Internet Source	1%
6	ojs.serambimekkah.ac.id Internet Source	1%
7	text-id.123dok.com Internet Source	1%
8	onehealthoutlook.biomedcentral.com Internet Source	1%
9	123dok.com Internet Source	1%

10	repo.stikesicme-jbg.ac.id Internet Source	1 %
11	download.garuda.ristekdikti.go.id Internet Source	1 %
12	pt.scribd.com Internet Source	1 %
13	zadoco.site Internet Source	1 %
14	fr.scribd.com Internet Source	1 %
15	Submitted to UIN Sunan Gunung Djati Bandung Student Paper	1 %
16	biologistkipappyk.wordpress.com Internet Source	1 %
17	repository.unwira.ac.id Internet Source	1 %
18	www.researchgate.net Internet Source	<1 %
19	garuda.ristekbrin.go.id Internet Source	<1 %
20	Siska Nuryanti, Fitriana Fitriana, A. Rini Pratiwi. "KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI BUAH NAGA	<1 %

MERAH (Hylocereus polyrhizus)", Jurnal Ilmiah As-Syifaa, 2021

Publication

21

Noor Aini Habibah, WH Nugrahaningsih, Y. Ulung Anggraito, Khoirul Mukhtar, Nur Wijayanti, Fajar Mustafa, Yosa Rostriana. " Effect of Growth Regulators on Cell Growth and Flavonoid Production in Cell Culture of ", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019

Publication

<1 %

22

Submitted to Universitas Muhammadiyah
Makassar

Student Paper

<1 %

23

pesquisa.bvsalud.org

Internet Source

<1 %

24

qdoc.tips

Internet Source

<1 %

25

zulfiprint19.blogspot.com

Internet Source

<1 %

26

Submitted to Udayana University

Student Paper

<1 %

27

Submitted to Nanyang Technological
University

Student Paper

<1 %

28

digilib.uns.ac.id

Internet Source

<1 %

29 digilib.uinsby.ac.id <1 %
Internet Source

30 idoc.pub <1 %
Internet Source

31 repository.uin-suska.ac.id <1 %
Internet Source

32 Submitted to Universitas Muhammadiyah
Surakarta <1 %
Student Paper

33 ejurnal.bppt.go.id <1 %
Internet Source

34 repository.unsri.ac.id <1 %
Internet Source

35 adoc.tips <1 %
Internet Source

36 rissaafriani.wordpress.com <1 %
Internet Source

37 www2.itanhaem.sp.gov.br <1 %
Internet Source

38 iminthegreenzone.blogspot.com <1 %
Internet Source

39 jurnal.fp.uns.ac.id <1 %
Internet Source

maggo.co.id

40

Internet Source

<1 %

41

publikasiilmiah.ums.ac.id

Internet Source

<1 %

42

repositori.kemdikbud.go.id

Internet Source

<1 %

43

research.rug.nl

Internet Source

<1 %

44

www.coursehero.com

Internet Source

<1 %

45

www.teknolabjournal.com

Internet Source

<1 %

46

docobook.com

Internet Source

<1 %

47

"Abstracts cont.", *Clinical Microbiology and Infection*, 2004

Publication

<1 %

48

ulfahdafauphe.blogspot.com

Internet Source

<1 %

Exclude quotes On

Exclude matches Off

Exclude bibliography On

5. JOURNAL LIFE SCIENCE

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/15

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11
