

 <p>UNIVERSITAS ABDURRAB</p>	<p>Klinikal Sains 11 (2) (2023) JURNAL ANALIS KESEHATAN KLINIKAL SAINS</p> <p>http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal</p>	
<p>IDENTIFIKASI BAKTERI <i>Escherichia coli</i>, <i>Shigella sp.</i> DAN <i>Staphylococcus aureus</i> SEBAGAI BIOMARKER CEMARAN PADA SUMBER AIR DAERAH STUNTING DI KELURAHAN BELAWAN SICANANG, KECAMATAN MEDAN BELAWAN, MEDAN</p> <p>Tania Regita Sari¹, Dinda Aulia Habib¹, Febri Sembiring², Gabriella Septiani Nasution², Lestari Rahmah².</p> <p>¹Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Medan ²Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Medan Jl. Jamin Ginting KM. 13,5, Lau Cih, Kec. Medan Tuntungan, Kota Medan, Sumatera Utara 20137 Alamat e-mail: febrysembiring@gmail.com</p>		
<p>Info Artikel</p> <hr/> <p><i>Sejarah Artikel:</i></p> <p>Diterima September 2023</p> <p>Disetujui November 2023</p> <p>Dipublikasikan Desember 2023</p> <hr/> <p><i>Keywords:</i></p> <p><i>Biomarkers, Enterotoxin, Most Probable Number (MPN), Stunting, Total Plate Count (TPC).</i></p>	<p>Abstrak</p> <hr/> <p>Stunting ialah gangguan pertumbuhan dan perkembangan anak akibat kekurangan gizi kronis dan infeksi berulang, yang ditandai dengan tinggi badan di bawah standar. Air merupakan sumber daya yang sangat dibutuhkan untuk aktivitas rumah tangga masyarakat, sehingga higienitasnya menjadi perhatian khusus. Cemaran bakteri jenis <i>Escherichia coli</i> enterotoksigenik yang ditransmisikan melalui air dapat meningkatkan resiko stunting pada anak dengan gejala awal diare berkelanjutan. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi biomarker pada sumber air penduduk daerah dengan stunting di Kelurahan Belawan Sicanang, Medan. Biomarker yang digunakan adalah <i>E. coli</i>, <i>Shigella sp.</i>, dan <i>Staphylococcus aureus</i>. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Most Probable Number (MPN) dan Total Plate Count (TPC). Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa 2 dari 3 sampel air minum tercemar <i>E. coli</i>., dan 3 dari 3 sampel air bersih tercemar <i>E. coli</i>. Sedangkan, dua biomarker lainnya tidak terdeteksi di semua jenis sampel.</p> <p>Kata Kunci: Angka Paling Mungkin (APM), Angka Lempeng Total (ALT), Biomarker, Enteritoksin, Stunting</p> <p>Abstract</p> <p><i>Stunting is a disorder of growth and development of children due to chronic malnutrition and repeated infections, which are characterized by below standard height. Water is a kind of resource which required for community household activities,. Therefore, water, sanitation and hygiene become particular concern. Contamination by Enterotoxigenic Escherichia coli that transmitted through water can increase the risk of stunting in children with continuous diarrhea. This research was conducted to identify biomarkers in water sources for local residents with stunting in Belawan Sicanang Village, Medan. The biomarkers used were E. coli, Shigella sp., and Staphylococcus aureus. The method used in this study is the Most Probable Number (MPN) and Total Plate Count (TPC). The results of this study indicated that 2 out of 3 drinking water samples were contaminated with E. coli., and 3 out of 3 clean water samples were contaminated with E. coli.</i></p>	

<i>Meanwhile, the other two biomarkers were not detected in all types of samples.</i>	
<i>Keywords: Biomarkers, Enterotoxin, Most Probable Number (MPN), Stunting, Total Plate Count (TPC)</i>	
© 2023 Universitas Abdurrah	
Alamat korespondensi: Jl. Jamin Ginting KM. 13,5, Lau Cih, Kec. Medan Tuntungan, Kota Medan, Sumatera Utara 20137 E-mail: febrysembiring@gmail.com	ISSN 2338-4921

PENDAHULUAN

Stunting merupakan keadaan dimana individu memiliki tinggi badan lebih pendek atau tidak sesuai kurva pertumbuhan *World Health Organization* (WHO) sebagai akibat dari asupan nutrisi yang tidak mencukupi dan infeksi berulang yang terjadi dalam 1000 hari pertama kelahiran (WHO, 2020). Prevalensi stunting di Indonesia masih dikategorikan tinggi, yaitu 21,6%, dan Provinsi Sumatera Utara berkontribusi 21,1% (Kementrian dalam negeri, 2022). Pada tahun 2022, Kecamatan Belawan menjadi salah satu daerah dengan prevalensi stunting tertinggi di Sumatera Utara, yaitu sebanyak 550 anak.

Penyebab utama stunting adalah asupan gizi yang tidak seimbang. Selain itu, ada beberapa faktor tambahan yang bersifat sistemik yang menyebabkan kekurangan gizi pada anak atau malnutrisi. Salah satunya adalah kebersihan lingkungan yang berkaitan dengan cemaran mikotoksin dan infeksi bakteri (Etzet, 2014). Kontaminasi dari bakteri khususnya terhadap bahan pangan yang dikonsumsi oleh anak balita dapat menyebabkan diare. Beberapa jenis bakteri yang dapat menyebabkan diare adalah *Staphylococcus aureus*, *Shigella sp.*, dan *Escherichia coli* (Argudin *et al*, 2010; Aslam dan Okafor, 2023). Bakteri *Escherichia coli* Enterotoksigenik memiliki kemampuan untuk mengkolonisasi usus dan membentuk biofilm sehingga menghalangi nutrisi untuk diserap oleh tubuh. Selain itu, toksin yang dikeluarkan bakteri tersebut dapat pula menyebabkan diare. Akibatnya, sistem kekebalan tubuh anak menjadi menurun dan mudah terserang penyakit. Kekurangan gizi pada anak juga dapat menghambat pertumbuhan fisik, mental dan kemampuan berfikir (Rilis, 2019; Owino *et al*, 2016). Permasalahan ini kemudian meningkatkan resiko stunting pada anak (Campbell *et al*, 2017).

Untuk itu, dalam upaya pemberantasan stunting, pengelolaan dan monitoring sumber air yang aman khususnya untuk keperluan minum dan pekerjaan rumah lainnya menjadi hal penting (Cairncross *et al*, 2010). Bahkan, menurut Peraturan Menteri Kesehatan RI Nomor 2 Tahun

2023, air minum harus bebas dari kontaminasi *E. coli* untuk mencegah terjadinya penyakit diare dan infeksi lainnya.

Selain bakteri jenis *E. coli* Enterotoksigenik, *Shigella sp.* dan *Staphylococcus aureus* termasuk bakteri penyebab diare (Fitri *et al.*, 2017). *Shigella sp.* memiliki toksin yang mengkontaminasi makanan sehingga menyebabkan diare. Bakteri masuk ke usus halus dan berkembang biak, kemudian masuk ke dalam usus besar. *Shigella sp.* menyebabkan kerusakan sel dengan menginvasi mukosa usus dan memproduksi enterotoksin yang akan merangsang terjadinya infeksi dan bahkan kematian sel pada jaringan usus halus (Aslam, 2022). Sedangkan, *Staphylococcus aureus* Enterotoksigenik juga penyebab utama keracunan makanan dan diare. Hal ini disebabkan karena interaksi antara enterotoksin dengan saraf yang terdapat pada dinding saluran pencernaan sehingga merangsang terjadinya inflamasi usus dan diare (Zaunit, 2019). Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri *Escherichia coli*, *Shigella sp.*, dan *Staphylococcus aureus* sebagai bioindikator cemaran sumber air di daerah Stunting, Kelurahan Belawan Sicanang, Kecamatan Medan Belawan, Medan.

METODE

Sampel dalam penelitian ini meliputi air minum isi ulang dari depot dan air bersih di tiga rumah Kelurahan Belawan Sicanang, Kecamatan Medan Belawan, Kota Medan. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pembakar spiritus, korek api, kapas, inkubator, beaker glass, petridis, erlenmeyer, spatula, neraca analitik, *hotplate*, *autoclave*, wadah botol steril, ose bulat, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, tabung durham, labu ukur, pipet tetes, dan objek glass. Adapun bahan yang digunakan adalah Media *Lactose Broth* (LB), Media *Briliant Green Laktosa Bile Broth* (BGLB), *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), *Nutrient Agar* (NA), *Salmonella Shigella Agar* (SSA), *Mannitol Salt Agar* (MSA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Simon Citrat* (SC), *Sulfur Indol Moltility* (SIM), H2O2 3%, plasma sitrat, dan aquadest.

Penelitian ini dilakukan menggunakan metode *Most Probable Number* (MPN) untuk pemeriksaan *Escherichia coli* dan Total Plate Count (TPC) pada media *Salmonella-Shigella Agar* (SS Agar) dan media *Manitol Salt Agar* (MSA) dengan teknik *Spread plate* (sebar) untuk pemeriksaan *Shigella sp.* dan *Staphylococcus aureus*. Kemudian, koloni yang tumbuh dilakukan pengamatan warna koloni pada media dan uji biokimia untuk menentukan jenis bakteri. Untuk bakteri *Shigella sp.* Diidentifikasi menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Sufide Indole Motility* (SIM), dan *Simon Citrate* (SC). Sedangkan, bakteri *Staphylococcus aureus* diidentifikasi dengan uji katalase, uji koagulase, dan uji manitol.

Metode MPN - *E. coli*

1. Uji Pendugaan

Sampel ditanam pada media *Lactose Broth* (LB) dengan metode MPN seri 5-1-1. Dimana, 5 tabung dipipet dengan 10 ml sampel, 1 tabung dipipet 1 ml sampel, dan 1 tabung dipipet 0,1 ml. Kemudian semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 2 malam. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gas pada tabung Durham dan media menjadi keruh. Hasil yang positif dilanjutkan ke uji penegasan.

2. Uji Penegasan

Sampel uji pendugaan positif diinokulasi pada media *Briliant Green Laktosa Bile Broth* (BGLB). Kemudian, semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C untuk coliform dan 44,5°C untuk colifecal selama satu malam. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya gas pada tabung Durham dan media menjadi keruh. Kemudian, konversi indeks MPN dilakukan mengikuti tabel MPN.

3. Uji Komplit

Sampel positif pada uji penegasan ditumbuhkan pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dengan cara disebar sebanyak 10 µl dan kemudian diinkubasi pada inkubator suhu 37°C selama satu malam. Hasil positif *E. coli* ditandai dengan warna hijau metalik.

Metode TPC - *Shigella sp.*

Sebanyak 200 µl sampel air ditanam dengan teknik sebar ke media SSA. Kemudian, media yang telah berisi sampel diinkubasi pada suhu 37°C selama satu malam dan hitung jumlah koloni yang terdapat pada media. Untuk mengkonfirmasi jenis bakteri, maka koloni yang tumbuh pada media SSA diuji reaksi biokimia dengan menggunakan media TSIA, SIM, dan SC.

Metode TPC - *Staphylococcus aureu*

Pengenceran bertingkat dilakukan hingga 10^{-2} pada sampel air. Kemudian, masing-masing pengenceran dan tanpa pengenceran disebar sebanyak 1 ml ke media MSA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama satu malam. Selanjutnya, hitung jumlah koloni yang tumbuh. Koloni yang tumbuh dikultur kembali dengan teknik gores T pada media MSA yang baru dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama satu malam. Untuk mengetahui jenis bakteri,

kemudian dilakukan uji katalase menggunakan H₂O₂ 3%, dan uji koagulase dengan menggunakan plasma sitrat.

ANALISA DATA

Analisa data bakteri *E. coli* dilakukan dengan menghitung jumlah tabung yang positif pada uji penegasan dan dikonversi mengikuti tabel MPN untuk mendapatkan indeks MPN. Untuk bakteri *E. coli*, koloni berwarna hijau metalik pada media EMBA diinterpretasi sebagai sampel positif. Untuk bakteri *Shigella sp.*, uji TSIA menunjukkan warna merah pada lereng bekas gores dan kuning di bagian bawah (diberikan kode k/a). Jika media TSIA tidak terangkat maka dianggap gas negatif dan tidak ada bekas berwarna hitam dianggap maka dianggap H₂S negatif. Sedangkan, *Staphylococcus aureus* dianggap positif jika bakteri yang tumbuh pada media MSA memiliki bentuk sel coccus, uji katalase positif dengan terbentuknya gelembung, uji koagulase positif dengan adanya gumpalan, dan uji mannitol negatif dengan tidak adanya perubahan warna dan tidak terbentuk gas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Uji *E. coli* dan *Shigella sp.*

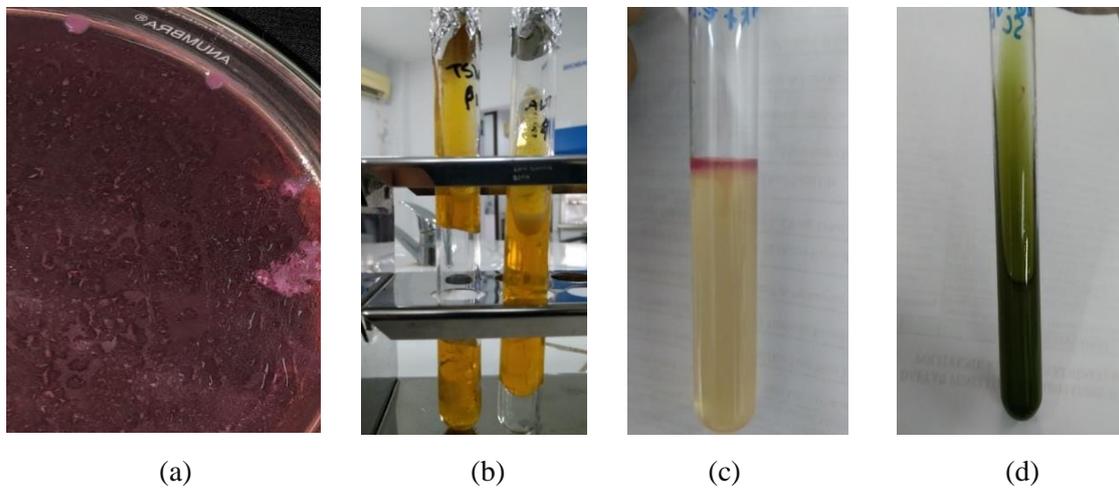
Hasil pengujian *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, dan Coliform terhadap 3 air minum dan 3 air bersih pada Kelurahan Belawan Sicanang, Kecamatan Meda Belawan, Kota Medan disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil keseluruhan

No	Sumber	MPN Coliform (cfu/ 100 ml)	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Shigella</i>
1	Air Minum 1	0	-	-	-
2	Air Minum 2	265	+	-	-
3	Air Minum 3	5	+	-	-
4	Air Bersih 1	≤ 979	+	-	-
5	Air Bersih 2	265	+	-	-
6	Air Bersih 3	≤ 979	+	-	-

Dari Tabel 1 menunjukkan bahwa 2 dari 3 sampel air minum isi ulang dan seluruh air bersih menunjukkan hasil positif terhadap *E. coli*. Sesuai dengan Keputusan Menteri Kesehatan RI Nomor 2 tahun 2023 bahwa air minum serta air untuk keperluan hygiene dan sanitasi bagi

rumah tangga wajib memenuhi kriteria mikrobiologi berupa parameter *E. coli* yaitu 0 cfu/100 ml dengan total *Coliform* 0 cfu/ml. Maka, 2 dari 3 air minum dan 3 dari 3 air bersih dianggap tidak layak untuk dikonsumsi. *Escherichia coli* merupakan mikroba yang jika berada dalam air merupakan petunjuk bahwa air tersebut tercemar oleh kotoran manusia atau hewan (Nurjannah, 2018). Selain mengandung *E. coli*, air minum dan air bersih tersebut mengandung bakteri Coliform lain dengan jumlah terendah yaitu 5 cfu/100 ml sampai 979 cfu/100 ml. Bakteri Coliform yang mencemari air tersebut dapat terdiri dari 4 jenis yaitu *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacea*, *Enterobacter aerogenes*, *E. coli* dan *Klebsiella pneumoniae* (Halkman dan Halkman, 2014).



Gambar 1 Isolat Shigella (a) Hasil isolasi sampel, (b) TSIA, (c) SIM, dan (d) SC

Hasil pemeriksaan bakteri *Shigella sp.* pada 3 sampel air minum isi ulang dan 3 sampel air bersih menunjukkan hasil negatif menggunakan media SSA, TSIA, SIM, dan SC. Sampel air bersih dari rumah masyarakat juga menunjukkan hasil negatif terhadap *Shigella sp.* Pada penelitian ini, koloni yang tumbuh pada media SSA berwarna merah muda dan tidak ada perubahan warna pada media, setelah dilakukan uji pada media TSIA menunjukkan hasil perubahan warna dari merah ke kuning, H₂S negatif (-), gas positif (+), dan uji pada media SIM menunjukkan hasil sulfur negatif (-), indole positif (+), motility positif (+). Hasil positif *Shigella* jika koloni tidak berwarna atau bening. Maka, dari hasil ini berdasarkan warna koloni, uji TSIA, dan SIM hasil menunjukkan bahwa koloni yang tumbuh pada media SSA adalah *Escherichia coli*, dan disimpulkan koloni tersebut bukan *Shigella sp.* Koloni tersebut bukan pula *Salmonella sp.*, karena koloni seharusnya berwarna hitam pada media SSA. *Salmonella sp.* tidak memfermentasi laktosa, tetapi mampu menghasilkan gas hidrogen sulfida (H₂S) yang

ditandai dengan bagian tengah koloni berwarna hitam, sedangkan *Shigella* tidak memfermentasi laktosa, tidak menghasilkan gas hidrogen sulfida (H₂S) sehingga warna koloni tetap bening. Bakteri coliform seperti *E. coli* akan memfermentasi laktosa pada media sehingga terjadi pertumbuhan bakteri dengan warna koloni merah muda, dan tidak menghasilkan gas hidrogen sulfida (H₂S) pada media SSA (Aryal, 2022).

Hasil Uji *Staphylococcus aureus*

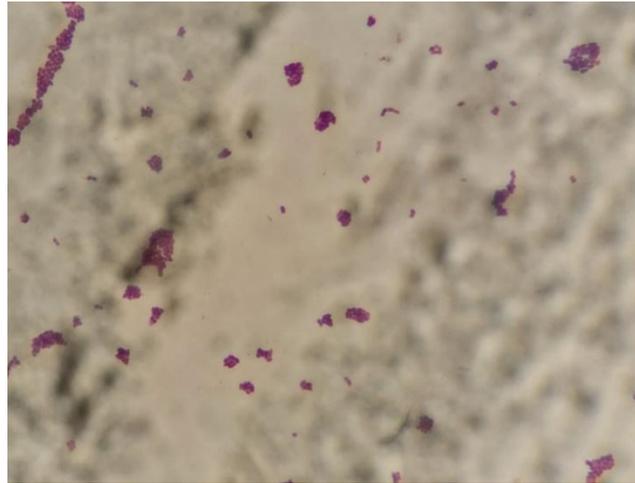
Hasil isolasi dan uji biokimia berbagai isolate dari sampel air minum dan air bersih ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2 Hasil isolasi dan uji biokimia berbagai isolate dari sampel air minum dan air bersih

No.	Sumber	Jumlah koloni yang diuji	Bentuk	Uji Katalase	Uji Koagulase	Uji Manitol	Jenis Bakteri
1	Air minum 1	10	<i>Coccus</i>	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
2	Air minum 2	10	<i>Coccus</i>	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
3	Air minum 3	10	<i>Coccus</i>	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
4	Air bersih 1	10	<i>Coccus</i>	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
5	Air bersih 2	10	<i>Coccus</i>	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>
6	Air bersih 3	10	<i>Coccus</i>	+	+	-	<i>Staphylococcus aureus</i>

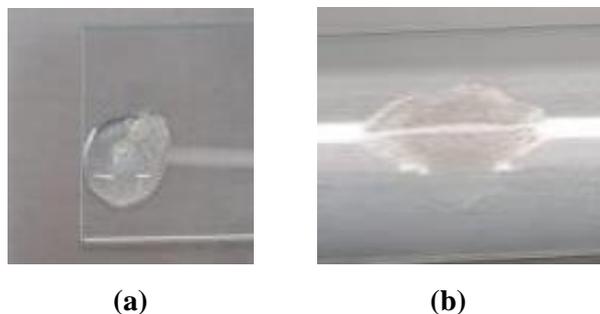
Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa koloni yang ditanam pada media uji dinyatakan bakteri *Staphylococcus aureus* dikarenakan pada pewarnaan gram terlihat koloni berbentuk bulat (coccus) dan berwarna ungu. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif berbentuk bulat dengan ukuran 0,7-1,2 µm tersusun tidak teratur seperti buah anggur, tidak memiliki spora dan tidak bergerak. Bakteri ini optimum tumbuh pada suhu 37°C.

Menurut Hayati *et, al* , (2019) uji katalase adalah uji untuk membedakan spesies bakteri *Staphylococcus* dan *Streptococcus* dimana bakteri *Staphylococcus* menghidrolisis hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air (H_2O) dan gas (O_2). Berdasarkan uji katalase yang dilakukan pada 60 koloni terlihat seluruh isolat positif bergelembung (Gambar 3a) yang menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri *Staphylococcus*.



Gambar 2 Penampakan sel bakteri *Staphylococcus aureus* dengan perbesaran lensa objektif 100x

Uji koagulase dilakukan untuk mengetahui adanya enzim koagulase, dimana enzim ini adalah protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri *Staphylococcus aureus* yang dapat menggumpalkan plasma. Dari uji yang dilakukan di peroleh hasil 60 koloni bakteri positif yaitu terjadi aglutinasi atau penggumpalan yang menandakan bahwa bakteri tersebut *Staphylococcus aureus*.



Gambar 3 Karakteristik isolat *S. aureus*: (a) Hasil uji katalase, (b) Hasil uji koagulase

SIMPULAN

Dua dari 3 sampel air minum dan 3 dari 3 sampel air bersih menunjukkan hasil yang tidak memenuhi standar cemaran mikrobiologi berdasarkan Peraturan Menteri Kesehatan. Pengujian ini dilakukan menggunakan metode MPN dan TPC yang disimpulkan positif cemaran *E.coli* dan Coliform. Dalam pengujian bakteri *Shigella* dan *Salmonella* pada semua sampel air menunjukkan hasil negatif. Terakhir, dari semua isolate yang diisolasi dari semua sampel menggunakan media MSA menunjukkan karakter jenis bakteri *Staphylococcus aureus*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Laboratorium Terpadu Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Medan yang telah memberikan bimbingan dan fasilitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Aryal, S. (2022) "Salmonella Shigella (SS) Agar-Composition, Principle,Uses,Preparation and Result Interpretation," *Microbiology Info.com*.
- Argudin, M, A, Mendoza, M, C, Rodicio, M, R. (2010) "Food Poisoning and *Staphylococcus aureus* Enterotoxins," *Toxins (Basel)*. 2(7): 1751-1773
- Asrori, M. K. (2021). "Pemetaan Kualitas Air Sungai di Surabaya," *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan* , 41-42.
- Aslam A, Okafor CN. (2023) "*Shigella*," Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482337/>
- Cairncross , S, A.C. Hunt , S. Boisson , K. Bostoen , V. Curtis , I.C.H. Fung , Water, "sanitation and hygiene for the prevention of diarrhoea," *Int. J. Epidemiol.* 39 (1) (2010) 193–205 .
- Campbell R.K , et al. , "Biomarkers of environmental enteric dysfunction among children in rural Bangladesh," *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 65 (1) (2017) 40–46 .
- Etzel, R.A. Reducing malnutrition: time to consider potential links between stunting and mycotoxin exposure? *Pediatrics* 134 (1) (2014) 4–6 .
- Fitri, N, W, Rahayu, D. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tumbuhan Melastomataceae Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*".
- Halkman H, B, D, Halkman, A, K. 2014. Indicator Organisms. USA: Encyclopedia of Food Microbiology
- Kementrian Dalam Negeri. (2022) "Sebaran Stunting Di Indonesia," *Ditjen Bina Pembangunan Daerah* .
- Nurjannah, L. (2018) "Uji bakteri Coliform dan *Escherichia coli* pada air minum isi ulang dan air sumur di kabupaten cirebon," *Ilmu alam indonesia* .

- Owino, V, Ahmed, T., Freemark ,M., Kelly, P. (2016) "Environmental enteric dysfunction and growth failure/stunting in global child health".
- Sari, N. (2018). "Metichiline Resistance Staphylococcus Aureus," *Jurnal Morfologi Dan Bakteri Penyebab Infeksi Kulit*.
- Utami, N., & Luthfiana, N. (2016) "Faktor Faktor Yang Mempengaruhi Diare Pada Anak," Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung, 102.
- Wahyuni, S. (2017) "Identifikasi Salmonella sp dan Shigella sp pada Pasien Diare di RSUD Dr. Moewardi Surakarta," *Universitas Setia Budi*.
- Zaunit. M. M, F. A. F. A. B. (2019) "Pengendalian *Stapylococcus Aureus* And Methicillin Resistant *Stapylococcus Aureus* Menggunakan Ramuan Obat Diare Masyarakat Maek," *Jurnal of Biological Sciences*, p. 15.