

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Tentang *Escherichia Coli*

1. Definisi *Escherichia coli*

Escherichia coli adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, berukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , tidak membentuk spora, dan merupakan flora normal di usus yang berfungsi untuk menekan pertumbuhan bakteri jahat, dan berperan sebagai mikrobiota usus yang membantu proses pencernaan dan pembusukan sisa-sisa makanan dalam usus besar, selain itu bakteri *Escherichia coli* juga mampu menghasilkan vitamin K didalam tubuh (Kuswiyanto, 2015).

Escherichia coli merupakan salah satu penyebab penularan penyakit melalui makanan yang disebut *foodborne disease*. *Foodborne disease* adalah penyakit yang disebabkan karena mengkonsumsi makanan atau minuman yang tercemar, penyakit yang ditimbulkan akibat *foodborne disease* adalah diare (Yunus, 2015). *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi pada saluran kemih atau biasa disebut *Hemolytic ureamic syndrome* (HUS) yang ditandai dengan rusaknya sel darah merah. Bakteri ini mampu menghasilkan toksin berbahaya yang disebut *verotoksin* (VT) yang dapat menyebabkan kerusakan pada pembuluh darah, dinding usus dan organ ginjal (Kuswiyanto, 2015).

2. Taksonomi *Escherichia coli*

Menurut (Martani, 2020) Klasifikasi bakteri *Escherichia coli* sebagai berikut :

<i>Kingdom</i>	: <i>Bacteria</i>
<i>Filum</i>	: <i>Proteobacteria</i>
<i>Kelas</i>	: <i>Gamma Proteobacteria</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Enterobacteriales</i>
<i>Famili</i>	: <i>Enterobacteriaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Escherichia</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Escherichia coli</i>

3. Morfologi *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang hidupnya di saluran pencernaan manusia dan hewan, *Escherichia coli* juga bakteri *anaerobik fakultatif* yang bisa tumbuh dalam keadaan *aerob* maupun *anaerob*, bakteri yang tergolong dalam *anaerob fakultatif* adalah bakteri *patogen* yang sering ditemui. *Escherichia coli* mempunyai bentuk batang pendek yang ukuran 0,4-0,7 μm x 1,4 μm , bersifat *motil* (dapat bergerak), bahkan tidak memiliki *nukleus*, dan *organel eksternal* maupun *sitoskeleton*. Akan tetapi memiliki *organel eksternal* yakni *vili* yang merupakan filamen tipis dan lebih Panjang (Soegijanto, 2016).

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri gram negatif yang ditunjuk dengan morfologi yaitu, berbentuk batang pendek dan berwarna merah setelah proses pewarnaan (Rahman dkk, 2018). EMBA sebagai media selektif terhadap pertumbuhan *Escherichia coli*. Perubahan media yang semula berwarna merah tua kehitaman menjadi hijau metalik dikarenakan peningkatan keasaman agar, dan pengambilan warna oleh proses fermentasi *Escherichia coli* (Sabudi dkk, 2017).



Gambar 2 1 Morfologi Bakteri *Escherichia coli*

(Sumber : Soegijanto, 2016)

4. Fisiologi *Escherichia coli*

Escherichia coli tumbuh pada media sederhana dengan pH 7,2. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 10-40°C dengan suhu optimal 37,5°C. *Escherichia coli* mengurai glukosa menjadi asam dan gas, *memfermentasi*

laktosa, dan *manitol*, terkadang *indol-positif*, membentuk koloni yang khas pada EMBA (*Eosin Methylen Blue Agar*), beberapa jenis dapat menghemolisis dan tumbuh pada suasana *aerob* dan *anaerob* (Kuswiyanto, 2015).

5. Sifat pertumbuhan *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* dapat tumbuh berlebihan jika mengonsumsi makanan yang terkontaminasi oleh bakteri seperti daging mentah, daging yang tidak masak sempurna dalam proses pengolahan, susu, dan air yang terkontaminasi bakteri *Escherichia coli* dapat menjadi patogen jika dalam jumlah yang banyak. Bakteri *Escherichia coli* dapat menjadi patogen jika dimasukkan dalam jumlah besar dan dapat tumbuh hidup pada rentang suhu 20-40°C, namun pertumbuhan *Escherichia coli* lebih optimal pada suhu antara 35°C-37°C dengan pH optimal 7 hingga 7,5. Selain itu bakteri *Escherichia coli* dapat hidup ditempat lembab, relatif sensitif terhadap panas, dan akan mati dengan proses pemasakan makanan dengan suhu yang relatif tinggi (Yersi, 2014).

6. Patogenesis *Escherichia coli*

Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri *coliform* dan hidup dalam saluran pencernaan manusia sehingga bakteri *Escherichia coli* termasuk dalam flora normal usus. Pada kondisi yang telah menimbulkan penyakit seperti diare dapat dipengaruhi oleh jumlah koloni pada saluran pencernaan dan karakteristik virulensinya (Irianto, 2014).

Berdasarkan sifat virulensinya bakteri *Escherichia coli* digolongkan menjadi beberapa golongan menurut (Romadhon, 2016) yaitu :

a. *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC)

Bakteri ini merupakan penyebab penting diare pada anak, khususnya di negara berkembang. Mekanismenya adalah dengan cara meletakkan dirinya pada sel mukosa usus kecil dan membentuk *filamentous actin pedestal* sehingga menyebabkan diare cair yang dapat sembuh dengan sendirinya atau berlanjut menjadi kronis. Diare seperti ini dapat disembuhkan dengan pemberian antibiotik.

b. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Bakteri ini juga merupakan penyebab diare umum pada anak di negara berkembang seperti Indonesia. Berbeda dengan EPEC, *Escherichia coli* jenis ini memproduksi beberapa jenis eksotoksin yang tahan maupun tidak tahan panas dibawah *control genotip plasmid*. Pada umumnya *eksotoksin* yang dihasilkan bekerja dengan cara merangsang sel epitel usus untuk menyekresi banyak cairan sehingga terjadi diare.

c. *Enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC)

Bakteri ini menyebabkan penyakit yang sangat mirip dengan *Shigelosis*. Penyakit ini paling umum terjadi pada anak-anak di negara berkembang. Seperti *Shigella*, galur EIEC bersifat non motil dan tidak memfermentasi atau lambat memfermentasi laktosa. EIEC menyebabkan penyakit dengan cara menginvasi sel epitel mukosa usus.

d. *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

Galur yang memproduksi *verotoksin* (VTEC). VTEC menyebabkan sejumlah kejadian luar biasa (KLB) diare dan *kronis hemoragik*. Penyakit ini bersifat akut dan daya sembuh spontan.

e. *Enteraggregative Escherichia coli* (EAEC)

Bakteri ini menyebabkan diare *akut dan kronik* (durasi > 14 hari) pada masyarakat di negara berkembang. Galur *Escherichia coli* ini ditandai oleh pola perlekatannya yang khas pada sel manusia.

7. Kontaminasi *Escherichia coli* Terhadap Makanan dan Minuman

Penyebab kontaminasi *Escherichia coli* pada makanan dan minuman bisa terjadi dari tahap pemilihan bahan sampai penyajian makanan dan minuman. Bakteri, virus, dan parasit dapat disebarkan melalui tangan yang tidak dicuci atau sarung tangan yang terkontaminasi, pekerja yang menyentuh wajah dan mulut mereka dengan tangan dan permukaan meja untuk persiapan peralatan, dan area persiapan yang tidak disanitasi. Bakteri *Escherichia coli* merupakan bakteri yang digunakan dalam

indikator pencemaran air akibat tinja, tetapi transmisinya tidak selalu melalui air, melainkan dapat melalui makanan yang diteruskan masuk kemulut (Afriyanti, 2019).

B. Tinjauan Umum Tentang Media Pertumbuhan Bakteri

1. Media Pertumbuhan Bakteri

Media adalah campuran nutrient atau bahan makanan yang diperlukan oleh mikroorganisme sebagai sumber energi untuk tumbuh dan berkembang. Selain untuk kultur mikroorganisme, media juga digunakan untuk isolasi, inokulasi, uji fisiologi, dan biokimia mikroorganisme (Rosidah, 2016).

Media pertumbuhan bakteri berdasarkan sifat dan fungsinya terbagi menjadi beberapa kelompok antara lain media *transport*, media diperkaya, media selektif, (*selective and differential media*), media pengujian, media perhitungan jumlah dan media umum (*universal media*). Sedangkan berdasarkan bahan penyusunannya media di bedakan dua macam yaitu media *sintetis* dan media *alami*. Media *sintetis* yaitu media yang terdiri dari bahan-bahan yang telah diketahui komposisinya seperti media *Nutrient agar*. Media alami yaitu media yang terdiri dari bahan-bahan alami seperti ekstrak kentang, sari wortel dan umbi-umbian (Rizky, 2021).

a. Berdasarkan Komposisi atau Susunan Bahannya :

1. Media Alami

Komposisi media ini tidak diketahui secara pasti baik jenisnya maupun ukurannya. Media ini sudah tersedia secara alami misalnya air, nasi, buah, biji, daging, dan lain-lain.

2. Media Sintetis

Sering juga disebut media buatan. Komposisi senyawa berikut takarannya diketahui secara pasti, tidak tersedia secara alami tapi dibuat. Media *sintetik* sering digunakan untuk mempelajari sifat *genetika mikroorganisme*. Senyawa organik dan anorganik ditambahkan dalam media sintetik harus murni sehingga harganya

mahal, misalnya : *sabouroud agar*, *czapek's dox agar*, cairan *hanks* dan lain-lain.

3. Media Semi Sintetis

Komposisinya Sebagian diketahui secara pasti, Sebagian lagi tidak disebut juga media setengah buatan misalnya *potato dextrose agar*, *nutrient agar* dan lain-lain (Rizky, 2021).

b. Berdasarkan Bentuknya

1. Media cair

Komposisi dapat sintesis dapat pula alami. Keadaan cair karena tidak ditambahkan bahan pematat.

2. Media padat

Sama halnya dengan media cair hanya yang membedakan ditambahkan bahan pematat (*agar-agar*, *amilum* atau *gelatin*).

3. Media semi padat

Media semi padat adalah media yang mengandung agar sebesar 0,1 – 0,5% dengan penambahan bahan tertentu untuk mengetahui sifat-sifat bakteri yang kita kehendaki (Rizky, 2021).

c. Berdasarkan Kegunaanya

1. Media Umum

Media ini digunakan secara umum artinya media ini dapat ditumbuhi oleh berbagai jenis mikroorganisme baik bakteri maupun jamur misalnya NA (*nutrient agar*) dan lain-lain.

2. Media Selektif

Media ini dipakai untuk menyeleksi mikroorganisme sesuai dengan yang diinginkan jadi hanya satu jenis mikroorganisme saja yang dapat tumbuh dalam media ini atau hanya satu kelompok tertentu saja, contoh media *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB).

3. Media Diferensial

Media ini digunakan untuk menyeleksi mikroorganisme. Medium ini dapat ditumbuhi berbagai jenis mikroorganisme tapi salah satu diantaranya dapat memberikan salah satu ciri yang khas

sehingga dapat dibedakan dari yang lain dan dapat dipisahkan. misalnya *media Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC) dilakukan apabila didapatkan koloni. *Escherichia coli* pada *media* EMBA dari makanan atau bahan lain.

4. Media Pengaya

Media ini digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme untuk keperluan tertentu. Dibiakkan dalam media ini supaya sel-sel mikroorganisme tertentu dapat berkembang dengan cepat sehingga diperoleh populasi yang tinggi. Komposisi media sangat diperlukan dan sangat menguntungkan bagi pertumbuhan sel mikroorganisme yang bersangkutan (Rizky, 2021).

2. Penanaman Bakteri (Bentuk Kultur)

Kultur adalah metode diagnostik definitif untuk sebagian besar bakteri dan jamur. Sampel ditumbuhkan pada media pertumbuhan dengan komposisi dan kondisi inkubasi yang disesuaikan dengan mikroorganisme yang akan diisolasi pada media tersebut. Media adalah zat yang komposisinya meliputi nutrisi yang berfungsi untuk menumbuhkan mikroorganisme, mengisolasi, menambah jumlah koloni, memeriksa sifat fisiologis dan menghitung jumlah mikroorganisme. Namun dalam proses produksinya harus terlebih dahulu disterilkan dan diaplikasikan secara *aseptik* untuk menghindari pencemaran lingkungan.

Penanaman bakteri (*inokulasi*) adalah pekerjaan memindahkan bakteri dari medium yang lama ke medium yang baru. Pekerjaan ini memerlukan ketelitian dalam keadaan steril baik alat maupun ruangnya yang digunakan untuk inokulasi bakteri di dalam laboratorium. Keadaan yang *steril* ini ditujukan untuk mencegah terjadinya kontaminasi yaitu masuknya mikroorganisme yang tidak diinginkan (Firmansyah dkk, 2015).

Kultivasi mikroba dilakukan dengan berbagai media pertumbuhan. Media pertumbuhan terdiri dari beberapa macam seperti media pertumbuhan *universal* atau umum hingga media *selektif diferensial* seperti *media Sorbitol MacConkey Agar* (SMAC) dilakukan apabila

didapatkan koloni *Escherichia coli* pada media EMBA. *Nutrient Broth* (NB) dan *Nutrient Agar* (NA) termasuk ke dalam media umum yang digunakan untuk menumbuhkan biakan secara *general* diformulasikan dengan sumber *karbon* dan *nitrogen* supaya dapat memenuhi kebutuhan nutrisi bakteri. Komposisi yang terdiri dari *beef extract* sebagai sumber *karbon* dan *pepton* sebagai sumber *nitrogen* (Wahyuningsih dkk, 2019).

Dalam kultur mikroorganisme terdapat 3 metode atau prosedur untuk melakukan kultur mikroorganisme sehingga diperoleh koloni-koloni terpisah (*discrete colonies*), tiga metode tersebut adalah :

1. Metode *Pour Plate*

Metode *pour plate* merupakan metode untuk memperoleh biakan murni dari populasi campuran mikroorganisme dengan cara mengencerkan *spesimen* yang kemudian dituangkan kedalam *cawan steril* dan diikuti dengan menuangkan *medium agar* yang telah dicairkan dan didinginkan (Angelia, 2020).

2. Metode *Spread Plate*

Teknik *spread plate* adalah teknik isolasi mikroba menggunakan cara menginokulasi kultur mikroba secara pulasan/sebaran pada permukaan media yg sudah memadat. Metode ini dilakukan menggunakan biakan kultur mikroba. Lantaran konsentrasi sel-sel mikroba dalam biasanya tidak diketahui, maka pengenceran perlu dilakukan beberapa tahap, sehingga sekurang-kurangnya terdapat satu menurut pengenceran itu yang mengandung koloni terpisah (30-300 koloni) karena koloni mikrobia yang terpisah memungkinkan koloni tadi bisa dihitung (Angelia, 2020).

3. Metode *Streak Plate*

Prinsip dari metode ini adalah teknik pengenceran dengan cara digoreskan dari satu cincin kultur campuran yang dibibitkan pada permukaan cawan agar. Metode gores umumnya digunakan untuk mengisolasi koloni mikroba pada cawan agar untuk mendapatkan koloni terisolasi dan kultur murni. Dasar dari metode ini adalah untuk

mengikis suspensi bahan yang mengandung bakteri dari permukaan agar yang sesuai dalam cawan Petri. Setelah inkubasi, goresan mengembangkan koloni berbeda yang mungkin berasal dari 1 sel mikroba, sehingga dapat diisolasi lebih lanjut. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang berbeda (Angelia, 2020).

C. Tinjauan Umum Tentang Pemeriksaan Bakteri *Escherichia coli*

Pemeriksaan *Escherichia coli* adalah serangkaian pemeriksaan yang dilakukan untuk mengidentifikasi adanya bakteri *Escherichia coli* pada makanan dan minuman ataupun *feses*. Uji identifikasi dilakukan untuk mengamati morfologi koloni meliputi bentuk koloni bakteri, warna, tepi dan elevasi koloni bakteri. Pemeriksaan bakteri *Escherichia coli* dapat dilakukan dengan menginokulasi pada media *Brain Hearth Infusion Broth* (BHIB) kemudian diisolasi pada media pembedahan seperti media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), serta dilakukan identifikasi bakteri menggunakan pewarnaan gram (Indaryati dkk, 2018).

a. Isolasi pada media *Brain Hearth Infusion Broth* (BHIB)

Media *Brain Hearth Infusion Broth* (BHIB) merupakan media penyubur yang berguna untuk pertumbuhan berbagai macam bakteri baik bentuk cair maupun agar. Bahan utama terdiri dari beberapa jaringan hewan ditambah *pepton*, *buffer posfat*, dan sedikit *dekstrosa*. Penambahan karbohidrat memungkinkan bakteri dapat menggunakan langsung sebagai sumber energi. Terjadinya kekeruhan pada media BHIB menandakan adanya pertumbuhan bakteri (Indaryati dkk, 2018).

b. Inokulasi pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA)

Eosin Methylen Blue Agar (EMBA) adalah media diferensial digunakan untuk deteksi dan inokulasi patogen usus Gram-negatif. Media diferensial merupakan media yang dapat menumbuhkan koloni-koloni suatu bakteri dan menyebabkan koloni suatu bakteri tertentu mendapatkan bentuk yang khas. Media ini menumbuhkan bakteri kelompok *Enterobacteriaceaea*, salah satunya adalah *Escherichia coli* yang akan tumbuh dengan membentuk koloni berwarna spesifik dengan ciri-ciri

bentuk bulat, diameter 2-3 mm, warna hijau dengan kilap logam dan bintik biru kehijauan di tengahnya (Fatiqin dkk, 2019).

c. Pengujian TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*)

Uji TSIA merupakan uji yang digunakan untuk membedakan antara kelompok *Enterobacteriaceae* dengan kelompok lainnya. Pada medium TSIA mengandung tiga macam gula-gula yaitu glukosa, laktosa, dan sukrosa. Perubahan yang diamati setelah inkubasi adalah warna pada medium, terbentuknya gas dan H₂S. H₂S di produksi oleh beberapa jenis mikroorganisme melalui pemecahan *asam amino* yang mengandung unsur belerang seperti lisin dan metionin. H₂S juga dapat diproduksi oleh senyawa belerang anorganik seperti *tiosulfat*, *sulfit* dan *sulfat* seperti yang terkandung dalam media TSIA, H₂S akan bereaksi dengan senyawa-senyawa yang terdapat pada media sehingga dikatakan positif H₂S jika terbentuk logam sulfit (Mahon dkk, 2015). Uji TSIA pada suatu bakteri dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa apabila media pada bagian atas dan bagian bawah berwarna kuning dan dikatakan tidak dapat memfermentasi semua karbohidrat (glukosa, laktosa, dan sukrosa), apabila bagian atas dan bagian bawah berwarna merah (Aini, 2018)

d. Pewarnaan Gram Bakteri

Pewarnaan gram merupakan pewarnaan *diferensiasi* sebab pewarnaan ini dapat membedakan sifat bakteri berdasarkan gram menggunakan dua zat warna. Pada pewarnaan gram maka akan tampak sifat Gram yaitu positif apabila warna bakteri ungu dan negatif apabila warna bakteri adalah merah. Selain sifat, pewarnaan gram juga dapat menunjukkan morfologi dari bakteri yaitu *basil*, *kokus*, *kokobasil*, *diplokokus*, dan *spora*. Pewarnaan Gram pada bakteri *Escherichia coli* menunjukkan warna bakteri menjadi merah berbentuk *kokobasil*, maka dinyatakan bahwa *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram-negatif. (Cappucino dkk, 2015).