

**LITERATURE JURNAL REVIEW METODE IDENTIFIKASI BAKTERI VIBRIO
CHOLERAE**

Rizka Khoirunnisa Guntina, Sri Agung Fitri Kusuma

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung-Sumedang KM 21, Jatinangor 45363

Telepon (022)7796200, Faksimile (022)7796200, E-mail:fmunpad@telkom.net

Abstrak

Vibrio cholerae merupakan bakteri gram negatif anggota genus *Vibrio*. *Vibrio cholerae* banyak ditemukan pada permukaan air yang telah terkontaminasi oleh tinja yang mengandung bakteri *V. cholerae*. Diagnosa *V. cholerae* dilakukan dengan beberapa cara diantaranya dengan metode konvensional dan metode molekuler menggunakan polymerase chain reaction (PCR). Sampel yang digunakan berasal dari sampel cair (lingkungan sekitar) dan hasil kultur bakteri. Deteksi bakteri *V. cholera* dapat dilakukan dengan menggunakan polymerase chain reaction (PCR). Hasil dari review ini disimpulkan bahwa metode deteksi bakteri *V. cholerae* dengan menggunakan PCR adalah yang paling efektif dan akurat.

Kata Kunci: *Vibrio cholerae*, konvensional, PCR, efektif

Abstract

Vibrio cholerae is a gram-negative bacterium belong to *Vibrio* genus. *Vibrio cholerae* is commonly found on water surfaces that have been contaminated by stools containing *V. cholerae* bacteria. Detection of *V. cholerae* is done in several ways such as conventional method and molecular method using polymerase chain reaction (PCR). The sample used is derived from the liquid sample (surrounding environment) and the result of bacterial culture. Detection of *V. cholera* bacteria can be done by using polymerase chain reaction (PCR). The results of this review concluded that the method of detection of *V. cholerae* bacteria using PCR was the most effective and accurate.

Keywords: *Vibrio cholerae*, conventional, PCR, effective

Commented [L1]: hilangkan

Commented [L2]: deteksi Vibrio cholerae

Commented [L3]: G nya pake huruf besar

Commented [L4]: Ini gak perlu

Commented [L5]: Ceritakan patogenitas *V. cholera* sedikit

Commented [L6]: Apa aja metode nya?

Commented [L7]: Lupakan bahwa ini tugas review. jadi focus lah ke metod deteksi nya

Commented [L8]: Ganti pake contoh metode konvensionalnya apa

Commented [L9]: Sesuaikan dengan abstrak

Commented [L10]:

PENDAHULUAN

Vibrio cholerae merupakan bakteri yang berbentuk batang bengkok seperti koma berukuran (0,5 μm x 1,5–3,0 μm), gram negatif, tidak berspora, hidup secara aerob atau anaerob fakultatif, bergerak melalui flagel yang monotrik, tidak membentuk spora, dan pada biakan tua dapat menjadi berbentuk batang lurus. Morfologi dan sifat-sifat *V. cholerae* ini dapat dijadikan pedoman dalam diagnosa atau identifikasi *V. cholerae* secara konvensional. Keberadaan cholera enterotoksin yang spesifik hanya terdapat pada *V. cholerae* patogen dapat menjadi target dalam pemeriksaan laboratorium untuk diagnosa bakteri *V. cholerae* patogen dengan menggunakan teknik biomolekuler seperti metode *polymerase chain reaction* (PCR) [1].

Meskipun *Vibrio* dan *Aeromonas* adalah penghuni alami lingkungan perairan, beberapa spesies dikenali sebagai pathogen bagi manusia yang menyebabkan patologi enterik, septikemia primer dan sekunder, dan infeksi luka [2].

PCR dan metode deteksi molekuler lainnya menawarkan alternatif yang berguna untuk pembiakan dan mikroskopi, terutama untuk sampel lingkungan [3].

Berbagai metode berbasis *polymerase chain reaction* (PCR) telah dilaporkan untuk identifikasi spesies *Vibrio*. Metode ini mencakup PCR real-time, *microarray* dan PCR multiplex. Namun, dua metode pendeteksian pertama mahal karena persyaratan untuk instrumen yang mahal, sedangkan metode PCR multiplex yang mendeteksi target spesies tunggal atau multipel terhitung efektif [4].

Deteksi bakteri patogen secara konvensional terutama didasarkan pada prosedur budidaya, menggunakan *enrichment broth* yang dilanjutkan dengan isolasi koloni pada media selektif, identifikasi biokimia dan konfirmasi patogenisitas. Metode kultur ini selektif untuk menentukan satu jenis patogen. Teknologi molekuler, yang terutama didasarkan pada amplifikasi DNA dengan uji *polymerase chain reaction* (PCR), dapat digunakan

Commented [L11]: Kenapa gak diceritakan bagaimana kasus kolera di Indonesia, sehingga metod deteksi bakteri ini menjadi penting

untuk melengkapi atau mengganti pendekatan berbasis budaya dan melewati beberapa bias dan keterbatasan intrinsiknya. Deteksi patogen dengan menggunakan PCR dianggap sebagai metode sensitif untuk diterapkan pada sampel lingkungan dan produk makanan [5].

Metode konvensional yang digunakan untuk mendeteksi dan mengklasifikasikan *vibrio* penyebab kolera yang diisolasi dari sampel klinis dan lingkungan memerlukan beberapa hari untuk menyelesaikan dan melibatkan kultur dalam air peptone alkali, agar suap empedu asam tiosulfat sitrat, aglutinasi geser dengan antisera spesifik, dan uji untuk produksi toksin kolera [6].

Metode mikrobiologi konvensional untuk mengidentifikasi *V. cholerae* melibatkan tes biokimia dan imunologi yang seringkali memerlukan waktu beberapa hari untuk menyelesaikannya [7].

Metode biokimia untuk mendeteksi *V. cholerae* memakan waktu. Antara 2 hingga 7 hari diperlukan untuk diagnosis pasti *V. cholerae*. Deteksi *V. cholerae*

memerlukan tes yang cepat, dan waktu merupakan faktor penting dalam menentukan kegunaan metode deteksi apapun. Selain itu, teknisi ahli diperlukan untuk melakukan tes ini, namun keahlian semacam itu tidak tersedia di semua laboratorium [8].

Deteksi berbasis PCR adalah teknik yang cepat dan sensitif untuk diagnosis primer dan kontrol patogenitas di mana gen spesifik biotipe, seperti *ctxA* dan *tcpA*, digunakan untuk mengidentifikasi adanya *V. cholerae*.

METODE

Metode yang digunakan dalam penulisan review ini adalah metode *cochrane collaboration review* atau pengumpulan informasi dan data dari literature terpilih yang berkaitan dengan topik penulisan.

Latar belakang dilakukannya penulisan review ini adalah banyaknya metode untuk mendeteksi bakteri patogen *Vibrio cholera* baik secara konvensional maupun molekuler. Hasil yang diperoleh pun berbeda pada setiap metode

Commented [L12]: Ininjuga..jangan bahas ttg ini adalah tugas review..pleasseeeee

Commented [L13]: Hilangkan

Commented [L14]: Ah jangan bahas2 ttg review ah

tergantung pada selektivitas dan sensitivitas metode yang digunakan.

Dari berbagai metode yang telah dilakukan, penulis akan membandingkan dan memilih metode yang paling baik dan akurat.

Selain itu, penulis berharap review ini dapat memberikan informasi kepada pembaca mengenai kelebihan dan kekurangan setiap metode yang ada. Sehingga dapat mengurangi kesalahan dan hal-hal yang diperlukan pada proses pengujian. Serta dapat menjadi acuan atau saran untuk penentuan metode deteksi bakteri *Vibrio cholera* di masa yang akan datang.

PEMBAHASAN

Deteksi *V. cholera* dilakukan terhadap beberapa sampel yang terkontaminasi oleh bakteri tersebut. Sampel penelitian yang dapat dipilih sebagai objek deteksi *V. cholera* diantaranya adalah sampel air (dari langkungan sekitar seperti air sumur, sungai, atau penampungan air) [9], kotoran [10], strain bakteri *V. cholerae* O1 and non-O1 stains yang disediakan oleh Bu-Ali *reference*

laboratory Iran, *Vibrio cholerae* strain NCTC 5941, didapat dari National Collection of Type Cultures, Inggris [11, 7].

Metode pertama yang dapat digunakan dalam mendeteksi bakteri *V. cholera* adalah metode konvensional [9].

Metode konvensional dengan medium kultur merupakan baku emas dalam mendiagnosa penyakit diare yang disebabkan oleh infeksi bakteri *V. cholerae*. Pemeriksaan dengan medium kultur mempunyai sensitivitas dan spesifisitas yang cukup tinggi, akan tetapi proses pemeriksaan memerlukan waktu yang cukup lama [12].

Sensitivitas metode tersebut mendekati 100% dan pemeriksaan dapat dilakukan terhadap sampel klinis yang mempunyai kandungan bakteri 10-100 sel. Meskipun metode kultur merupakan metode baku, namun metode konvensional memiliki kekurangan karena untuk identifikasinya memerlukan waktu yang lebih lama yaitu 2-3 hari. Metode konvensional juga harus dilakukan oleh tenaga laboratorium

Commented [L15]: Focus...sednag membahas vibrio kloera..jadi tidak ada kata2 :penulis dan review

Commented [L16]: Kenapa sih hanya bahas ttg PCR..kan banyak atuh metode lainnya..kan tadi juga udah dijelaskan sendiri..pcr mahal..juga memerlukan tenaga khusus untuk bias mengoperasikannya..jadi jelaskan semua metod deteksi bakteri ini..bagaimana hasilnya..caranya..trus..bagus lagi...harus dicari ada ngga kit diagnostic untuk bakteri ini..contoh uji strip

yang sudah terlatih dan hal lain yang menjadi kendala adalah umumnya tidak tersedianya fasilitas laboratorium mikrobiologi pada kasus kejadian luar biasa kolera [13].

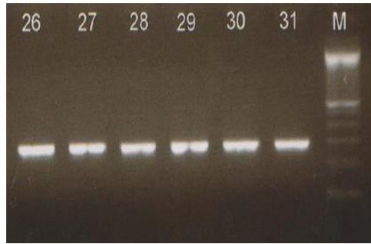
Metode selanjutnya dalam deteksi *V. cholerae* adalah deteksi bakteri dengan amplifikasi DNA menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan suatu metode yang digunakan untuk amplifikasi urutan basa DNA tertentu (selektif). Metode ini pertama kali ditemukan oleh Kary Mullis pada tahun 1987. Metode PCR dapat digunakan untuk menggandakan urutan basa nukleotida tertentu secara *in vitro*. Penggandaan urutan bas nukleotida berlangsung melalui reaksi polimerisasi yang dilakukan berulang-ulang secara berantai selama beberapa putaran (siklus). Setiap reaksi polimerisasi membutuhkan komponen-komponen sintesis DNA seperti untai DNA yang akan digunakan sebagai cetakan (*template*), molekul oligonukleotida untai tunggal dengan ujung 3'-OH

bebas yang berfungsi sebagai prekursor (primer), sumber basa nukleotida berupa empat macam dNTP tahap selanjutnya, masing-masing untai tunggal (dATP, dGTP, dCTP, dTTP), dan enzim DNA polymerase [9].

Pemeriksaan *V. cholerae* dengan menggunakan metode PCR dan kemudian dikonfirmasi dengan gel elektroforesis berhasil mendapatkan bahwa sampel tersebut merupakan mengandung bakteri *V. cholerae* patogen karena positif mengandung gen *ctx*. Gen *ctx* merupakan gen yang terdapat pada bakteri *V. cholerae* patogen yang menghasilkan toksin kolera (*cholera toxin* = CT). Toksin kolera sangat berperan dalam menyebabkan terjadinya diare. Gen *ctx* ini hanya dimiliki oleh *V. cholerae* patogen sehingga untuk mengidentifikasi bakteri ini hanya dapat dilakukan dengan melihat gen spesifik yang dimilikinya. Gen spesifik tersebut dapat dilihat dengan pemeriksaan menggunakan metode PCR. Tidak semua bakteri *V. cholerae* mempunyai gen *ctx* dan hanya bakteri *V. cholerae* patogen yang mempunyai

gen ini yaitu *V. cholerae* serogroup O1 dan O139 [14].



Gambar Hasil elektroforesis amplifikasi

Kelebihan metode deteksi *V. cholerae* menggunakan metode PCR adalah pada waktu yang diperlukan untuk proses pemeriksaan. Selain itu, metode PCR merupakan metode yang sensitif dan spesifik bila dibandingkan dengan metode konvensional (pembiakan) yang merupakan metode baku emas (*gold standard*) pada identifikasi bakteri. Dengan deteksi metode PCR, sampel yang diperiksa atau identifikasi bakteri penyebab infeksi dapat diketahui hasilnya dalam waktu satu hari. Tentunya hal ini sangat berbeda dengan metode pemeriksaan secara konvensional yang membutuhkan waktu lebih dari satu hari agar dapat diketahui hasilnya. Bila

dibandingkan, metode konvensional lebih murah atau tidak memerlukan biaya banyak daripada metode PCR.

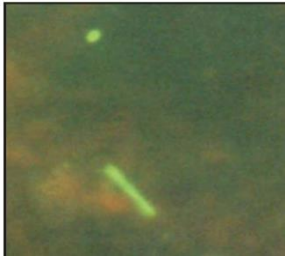
Metode lain yang digunakan untuk deteksi bakteri *V. cholerae* adalah PCR multipleks.

PCR multipleks adalah teknik biologi molekuler yang terkenal untuk memperbanyak beberapa target dalam percobaan PCR tunggal. Dalam uji multiplexing, lebih dari satu urutan target dapat diamplifikasi dengan menggunakan beberapa pasangan primer dalam campuran reaksi [11].

Metode ini mampu mendeteksi *V. cholerae* dalam sumber air dan makanan dalam waktu yang singkat. Berdasarkan hasil penelitian dan studi sebelumnya, metode PCR multipleks merupakan pendekatan paling ideal untuk deteksi cepat bakteri dalam jumlah kecil.

Metode lain yang dapat digunakan untuk deteksi bakteri *V. cholerae* adalah *Direct immunofluorescence of Vibrio cholerae O1* (DFA-DVC). Metode ini merupakan metode presumtif atau

pendugaan keberadaan bakteri *V. cholerae* [15].



Gambar deteksi *V. cholerae* dengan *direct immunofluorescence*

Metode ini dapat menunjukkan keberadaan bakteri *V. cholerae* yang tidak dapat dideteksi dengan metode konvensional.

Metode selanjutnya yang digunakan untuk mendeteksi keberadaan *V. cholerae* dalam specimen kotoran adalah *Dipstick Kit*.

Dipstick Kit memiliki antibodi monoklonal yang spesifik untuk *V. Cholerae* (VC) O1 dan O139 lipopolisakarida (LPS) dan menggunakan imunokromatografi aliran vertikal. Deteksi LPS kit adalah 10 ng / ml untuk VC O1 dan 50 ng / l untuk VC 0139 [16].

Untuk deteksi bakteri *V. cholerae* pada sampel biologi, alat

diagnostik yang akurat untuk kolera sangat dibutuhkan untuk surveilans kolera di daerah epidemi dan endemik. Namun teknik seperti kultur bakteri biasanya tidak layak di setting sumber daya rendah.

Dari hasil tersebut dapat disimpulkan jika metode paling akurat, sensitif, dan efektif adalah metode identifikasi menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR).

SIMPULAN

Dari hasil *review* beberapa literature metode identifikasi bakteri *V. cholerae* menggunakan PCR multipleks merupakan metode paling efektif dibandingkan dengan metode lain karena metode ini dapat mendeteksi bakteri *Vibrio* secara spesifik dan dalam jumlah yang kecil.

SARAN

Metode *polymerase chain reaction* (PCR) mutipleks memungkinkan deteksi bakteri *V. cholerae* dari sampel biologis, alami, maupun hasil kultur (biakan) dengan jumlah yang kecil sehingga sangat sesuai untuk diterapkan di laboratorium diagnostic

rutin maupun laboratorium untuk tingkat isolasi tinggi.

Daftar Pustaka

- [1] C. Chomvarin, W. Namwat, S. Wongwajana, M. Alam, K. Thaew-Nonningiew and C. Engchanil, "Application of duplex-PCR in rapid and reliable detection of toxigenic *Vibrio cholerae* in water samples in Thailand," *J. Gen. Appl. Microbiol.*, vol. 53, pp. 229-237, 2007.
- [2] C. Gugliandolo, V. Lentini, A. Spano and T. L. Maugeri, "Conventional and molecular methods to detect bacterial pathogens in mussels," *Applied Microbiology*, vol. 52, pp. 15-21, 2010.
- [3] E. K. Lipp, I. N. Rivera, A. I. Gil, E. M. Espeland, N. Choopun, V. R. Louis, E. Russek-Cohen, A. Huq and R. R. Colwell, "Direct Detection of *Vibrio cholerae* and *ctxA* in Peruvian Coastal Water," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 60, no. 6, pp. 3676-3680, 2003.
- [4] M. T. Hossain, E. Y. Kim, Y. R. Kim, D. G. Kim and I. S. Kong, "Development of a *groEL* gene-based species-specific multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 144, pp. 448-456, 2012.
- [5] J. R. Thompson, L. A. Marcelino and M. F. Polz, "Diversity, sources and detection of human bacterial pathogens in the marine environment," in *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*, New York, S, 2005, p. 29-68.
- [6] D. V. Singh, S. R. Isac and R. R. Colwell, "Development of a Hexaplex PCR Assay for Rapid Detection of Virulence and Regulatory Genes in *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus*," *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, vol. 40, no. 11, pp. 4321-4324, 2002.
- [7] J. Theron, J. Cilliers, M. Du Preez, V. S. Brozel and S. N. Venter, "Detection of toxigenic *Vibrio cholerae* from environmental water samples by an enrichment broth cultivation-pit-stop semi-nested PCR procedure," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 89, pp. 539-346, 2000.
- [8] C. L. Tarr, J. S. Patel, N. D. Puhr, E. G. Sowers, C. A. Bopp and N. A. Strockbine, "Identification of *Vibrio* isolates by a multiplex PCR assay and *rpoB* sequence determination," *Journal of Clinical*

- Microbiology*, p. 134—40, 2007.
- [9] Kharirie, “Diagnosa Vibrio Cholerae dengan Metode Kultur dan Polimerase Chain Reaction (PCR) pada Sampel Sumber Air Minum,” *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, vol. 2, no. 2, pp. 51-58, 2013.
- [10] P. Varela, G. D. Pollevick, M. Rivas, I. Chinen, N. Binsztein, A. C. Frasch and R. A. Ugalde, “Direct Detection of Vibrio cholerae in Stool Samples,” *Journal of Clinical Biology*, vol. 32, no. 4, pp. 1246-1248, 1994.
- [11] J. F. Mehrabadi, P. Morsali, H. R. Nejad and A. A. Fooladi, “Detection of toxigenic Vibrio cholerae with new multiplex PCR,” *Journal of Infection and Public Health*, vol. 5, pp. 263-267, 2012.
- [12] E. W. Koneman, S. D. Allen, W. M. Janda, P. C. Schreckenberger and W. C. Winn, *Color atlas and textbook of diagnostic microbiology*. 4th ed, Philadelphia: JB Lippincott Company, 1990.
- [13] A. Priadi and L. Natalia, “Patogenesis Septicaemia Epizootica (Se) Pada Sapi/Kerbau: Gejala Klinis, Perubahan Patologis, Reisolasi, Deteksi Pasteurella Multocida dengan Media Kultur dan Polymerase Chain Reaction (PCR).” *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 2000.
- [14] J. B. Kaper, J. G. Morris and M. M. Levine, “Cholera. Clinical Microbiology Reviews,” *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 8, no. 1, p. 48, 1995.
- [15] O. Outlet, C. Silva, S. G. Fraga, M. Pichel, R. Cangemi, C. Gaudio, N. Porcel, M. A. Jure, M. C. de Castillo and N. Binsztein, “Detection of viable nonculturable Vibrio cholerae O1 through cultures and immunofluorescence in the Tucuman rivers, Argentina,” *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 40, no. 4, pp. 385-390, 2007.
- [16] C. M. George, M. Rashid, D. A. Sack, R. B. Sack, K. M. Saif-Ur-Rahman, S. Monira, S. I. Bhuyian, K. M. Rahman, M. T. Mahmud, M. Mustafiz and M. Alam, “Evaluation of Enrichment Method for Detection of Vibrio cholerae O1 using a Rapid Dipstick Test in Bangladesh,” *Trop Med In Health*, vol. 19, no. 3, pp. 301-307, 2014.

Commented [L17]: Judul jurnal itu harus disingkat sesuai dengan singkatannya masing2..googling aja..ketik nama jurnalnya apa trus diketik juga abbreviation..ntar akan tau singkatan jurnalnya apa