

**DETEKSI *E. coli* PENGHASIL *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL)  
MENGUNAKAN METODE PCR PADA SAMPEL AIR BERSIH**

Lella Rahmawati<sup>1</sup>, Retno Sasongkowati<sup>2</sup>, Anita Dwi Anggraini<sup>3</sup>, Deddy Adam<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup> Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Poltekkes Kemenkes Surabaya

Jurusan Kesehatan Lingkungan Poltekkes Kemenkes Surabaya

\*Email korespondensi: [lellarahmawati.lr@gmail.com](mailto:lellarahmawati.lr@gmail.com)

---

**ABSTRACT**

*Escherichia coli* is a normal flora in the human body that plays an important role in the digestive process. The presence of *Escherichia coli* ESBL (*Extended Spectrum Beta-Lactamase*) bacteria in clean water samples indicates environmental pollution originating from feces. The aquatic environment is the most influential ecosystem in human life. These contaminated ecosystems provide optimal conditions for antibiotic-resistant bacteria from various sources to mix and transfer their resistance genes to clinically important bacteria for the development of human pathogens with novel resistance mechanisms. This study aims to determine the percentage of ESBL-producing *E. coli* bacteria in clean water samples.

This study uses a descriptive observational design. The total sampling is 195 clean water samples. After going through screening in the form of membrane filter tests, KIA, and IMVIC, 25 isolates were found which were declared as *E. coli*. Analysis of the ESBL-producing *E. coli* gene using conventional PCR. Analysis of the Molecular Weight value in the sample using the GelAnalyzer 19.1 application.

Based on these calculations, it was found that samples of *E. coli* isolates containing the ESBL gene were 24% of the 25 *E. coli* isolates. This percentage indicates that there is a large enough contamination in clean water. The results of this study indicate a potential risk to public health. The participation of health workers, government and the community in maintaining sanitary hygiene is needed to avoid greater contamination of antibiotic-resistant bacteria.

**Keywords:** water, *E. coli*, Electrophoresis, ESBL, PCR

---

**PENDAHULUAN**

Air merupakan komponen penting dalam kehidupan manusia. Hampir seluruh aspek kehidupan manusia membutuhkan air untuk melakukan aktivitas. Namun tidak semua air memenuhi persyaratan untuk baku mutu kesehatan lingkungan. Bahkan air yang terlihat jernih sekalipun tidak sepenuhnya terbebas dari senyawa terlarut kimiawi dan unsur mikrobiologi (Arum, 2017).

Air yang terkontaminasi oleh substansi tertentu dapat menyebabkan gangguan kesehatan jika kontaminasi dalam jumlah yang besar dan tidak memenuhi persyaratan kesehatan lingkungan seperti tercantum pada Permenkes Nomor 32 tahun 2017 tentang Standar Baku Mutu Kesehatan Air (Kemenkes RI, 2017).

Sumber kontaminasi pada air salah satunya adalah feces. Kontaminasi ini disebarkan melalui rute fekal oral,

dimana sumber kontaminasi keluar bersama feces manusia atau hewan, mengkontaminasi air, air tersebut dikonsumsi oleh manusia sehingga memasuki inang baru. Oleh karena itu berbagai sumber air untuk keperluan konsumsi manusia di atur oleh undang-undangan Republik Indonesia (Kemenkes RI, 2017).

Berdasarkan Permenkes Nomor 32 tahun 2017 tentang Standar Baku Mutu Kesehatan Air, air untuk keperluan higienitas sanitasi dalam kehidupan sehari-hari harus memenuhi persyaratan kesehatan, baik secara kimia, fisika maupun mikrobiologi. Secara khusus, parameter wajib air untuk keperluan higienitas sanitasi meliputi total *coliform* dan *Escherichia coli* (Kemenkes RI, 2017).

Salah satu parameter yang di atur dalam undang-undangan adalah bakteri *Escherichia coli*. Pada hakikatnya, bakteri *Escherichia coli* merupakan flora normal pada tubuh manusia yang

berperan penting dalam proses pencernaan. Keberadaan bakteri *Escherichia coli* dalam air, mengindikasikan adanya pencemaran lingkungan yang bersumber dari feses (Winiati, 2018).

*E. coli* merupakan salah satu bakteri koliform yang termasuk dalam famili *Enterobacteriaceae*. *E. coli* merupakan bakteri berbentuk batang, bersifat gram negatif, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora dan merupakan flora alami pada usus manusia. Beberapa strain bakteri ini memberikan manfaat bagi sistem pencernaan manusia, namun ada beberapa strain lain yang menyebabkan gangguan kesehatan, strain ini disebut bakteri patogen. Secara fisiologi, *E. coli* memiliki kemampuan bertahan pada kondisi lingkungan yang sulit. *E. coli* tumbuh dengan baik di air tawar, air laut, atau di tanah. Bakteri *E. coli* yang hidup dalam air umumnya adalah non-patogen, tetapi terkadang ditemukan pula strain patogen seperti enterotoksigenik dan enterohemoragik atau *E. coli* yang memproduksi shigatoxin (Winiati, 2018).

Strain *E. coli* patogen sering menyebabkan infeksi seperti septimia, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis, gastroenteritis dan penyakit lainnya. Salah satu hal yang dilakukan oleh paramedis untuk menyelamatkan pasien yang terinfeksi bakteri tersebut adalah terapi antimikroba. Antimikroba yang sering digunakan sebagai resep rutin adalah antibiotika golongan sefalosporin. Antibiotika ini merupakan golongan betalaktam yang berasal dari fungus *Cephalosporium acremonium*. Antibiotika ini menjadi bagian utama dari formulasi antibiotik di rumah sakit negara-negara maju dikarenakan reaksi alergi dan toksisitasnya yang relatif rendah. Namun penggunaan antibiotik tersebut menyebabkan sisi lain dalam beberapa pertumbuhan bakteri, karena spektrum yang luas mendorong lebih cepat beberapa organisme yang tidak dapat dihilangkan atau dihambat dengan terapi sehingga berpotensi patogen dan resisten terhadap antibiotik (Mirzan, 2017).

Survei yang dilakukan oleh *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) tahun 2013 di Amerika Serikat, menunjukkan bahwa prevalensi resistensi antibiotik pada manusia di dunia meningkat setiap tahun. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Jakarta, Palembang dan Tangerang, resistensi antibiotik yang terjadi yaitu penisilin (87,3%), tetrasiklin (88,9%), siprolaksasin (55,8%), leflokasin (77,0%), dan kanamisin (30,3%). Berdasarkan penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit Umum Pusat Haji Adam Malik Medan pada Januari-Juni 2016 didapatkan resistensi antibiotik golongan ESBL (*Extended Spectrum Beta-Lactamase*) dengan distribusi *Escherichia coli* 243 (43%), *Klebsiella pneumoniae* 223 (39%) dan 18 lainnya adalah bakteri golongan *Enterobacteriaceae* (Mirzan, 2017).

Lingkungan perairan merupakan ekosistem yang paling intensif terpengaruh akibat pola hidup manusia. Perairan sungai sebagai salah satu sumber air bersih yang menjadi *reservoir* bagi limbah rumah tangga diperkotaan, industri dan rumah sakit sehingga mengandung berbagai macam bakteri di dalamnya. Ekosistem yang terkontaminasi ini memberikan kondisi optimal bagi bakteri resisten antibiotik dari berbagai sumber untuk mencampur dan mentransfer gen resistennya ke bakteri yang penting secara klinis untuk pengembangan patogen manusia dengan mekanisme resistensi baru (Aftab, 2018). Pelacakan penyebaran bakteri resisten antibiotik dalam sampel air, seperti air limbah, keran dan air sumur, merupakan sumber informasi yang berguna yang dapat digunakan oleh pembuat kebijakan untuk membuat strategi manajemen risiko untuk lingkungan air (E. Amaya, 2012).

Berdasarkan paparan tersebut *E. coli* penghasil ESBL merupakan bakteri penyebab resistensi yang terdapat dalam air. Bakteri tersebut memiliki ciri khas genetik yang dapat diidentifikasi melalui deteksi molekuler. Penelitian selanjutnya yang akan dilakukan oleh penulis adalah identifikasi keberadaan *E. coli* penghasil ESBL yang diisolasi dari sampel air bersih

di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya menggunakan metode PCR.

### METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan desain deskriptif observasional dimana peneliti akan mendeteksi gen ESBL yang dihasilkan oleh isolat *Escherichia coli* di BBLK Surabaya yaitu *blaCTX-M*, *blaTEM*, dan *blaSHV* menggunakan metode PCR.

Sampel diambil dari hasil analisa yang menunjukkan positif *E. coli* kemudian di murnikan pada media NAS dan selanjutnya disimpan dalam skim milk pada suhu  $-20^{\circ}\text{C}$ . Jumlah sampel untuk melakukan analisa data adalah 25 uji atau berdasarkan isolat *E. coli* yang ditemukan.

Teknik pengumpulan data dilakukan dengan cara mengambil data primer. Isolat *E. coli* didapatkan dari sampel air bersih yang telah diidentifikasi dengan metode membran filter melalui media *chromocult agar for total coliform and E. coli*, serta uji KIA dan IMVIC.

Selanjutnya isolat positif *E. coli* akan di ekstraksi DNANYa dan digunakan untuk template *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Deteksi gen dilakukan dengan melakukan amplifikasi dengan PCR pada primer spesifik dari *blaCTX-M*, *blaSHV*, dan *blaTEM*.

Penelitian ini telah melalui proses telaah etik melalui komisi etik Politeknik Kesehatan Kemenkes Surabaya dengan nomor EA/1194/KEPK-Poltekkes\_Sby/V/2022 dan telah dinyatakan layak etik sesuai dengan 7 (tujuh) standar WHO 2011.

Peneliti melakukan skrining terhadap sampel yang didapatkan berupa uji KIA dan IMVIC. Sampel dengan hasil positif pada uji IMVIC akan dilanjutkan pemeriksaan terhadap gen ESBL (*Extended Spectrum Beta Lactamase*) yaitu *blaCTX* (*Cefotaxime*), *blaTEM* (*Temoneira*) dan *blaSHV* (*Sulphydryl*). Berdasarkan hasil skrining didapatkan 25 sampel dengan interpretasi positif *Escherichia coli*.

Proses amplifikasi pada gen *SHV* menggunakan *single* PCR, sedangkan pada gen *CTX* dan *TEM* menggunakan *multiplex* PCR. Uji kuantitatif pita DNA menggunakan aplikasi *GelAnalyzer 19.1*. Perhitungan dilakukan terhadap 3 gen yaitu *SHV*, *CTX-M* dan *TEM*.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisa nilai *Molecular Weight* pada sampel didapatkan persentase nilai sampel positif sebagai berikut :

**Tabel 1**  
DISTRIBUSI *E. coli* ESBL dan non-ESBL

Nomor	Kategori	Jumlah	Persentase (%)	Keterangan
1.	<i>E. coli</i> ESBL	6	24	Gen yang teridentifikasi : <i>CTX-M</i> dan <i>TEM</i>
2.	<i>E. coli</i> non ESBL	19	76	
TOTAL		25	100	

Berdasarkan tabel 1 sampel yang memiliki kandungan *E. coli* ESBL berupa gen *CTX-M* dan *TEM* total sebanyak 6 sampel atau 24% dari 25 sampel positif *E. coli* yang diperiksa di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya pada periode Desember 2021 sampai Februari 2022 yang telah melalui proses skrining berupa uji membran filter, KIA dan IMVIC. Persentase tersebut menunjukkan adanya kontaminasi yang cukup besar pada air bersih. *E. coli* merupakan bakteri yang kandungannya tidak diperbolehkan terdapat pada air

bersih berdasarkan peraturan Kementerian Kesehatan Nomor 32 tahun 2017 tentang Standar Baku Mutu Kesehatan Air Keperluan Sanitasi.

Gen yang pertama kali dimediasi beta-laktamase adalah *TEM*, gen ini dapat menyebar ke berbagai spesies bakteri melalui konjugasi. Kemudian gen lain juga muncul seperti *SHV* dan *CTX-M* yang dapat meningkat menjadi multi resistant (Mirzan, 2017). ESBL tipe *CTX-M* pertama kali dilaporkan pada pertengahan tahun 1980 dan menyebar dengan cepat pada dekade terakhir dan

menjadi tipe ESBL paling banyak di beberapa negara. *CTX-M* mempunyai karakteristik tingkat resistensi yang lebih tinggi pada cefotaxime daripada ceftazidime (Hamdan, 2017). Selain itu kemampuan hidrolisis cefotaxime gen *CTX-M* lebih tinggi dibandingkan tipe *SHV* dan *TEM* (Yulianto, 2016).

Beberapa penelitian tentang identifikasi gen ESBL telah dilakukan di beberapa negara di Asia seperti Malaysia, Filipina, India dan Bangladesh. Penelitian yang dilakukan di beberapa sungai yang melewati wilayah perkotaan di Malaysia yaitu sungai Kayu Ara dan sungai Pencala yang terdapat di kota Petaling Jaya, Selangor menunjukkan persentase gen *CTX-M* sebesar 84,2 % dan gen *TEM* sebesar 47,4 %. Hasil tersebut didapatkan dari 19 isolat ESBL yang didominasi oleh bakteri *Klebsiella* sp, *E. coli*, dan *Enterobacter* sp. (Shehani, 2013). Di negara Asia lainnya yaitu India telah dilakukan pula identifikasi *E. coli* penghasil ESBL yang diisolasi dari sungai Mula-Mutha, yaitu sungai yang melalui kota Pune. Penelitian tersebut menggunakan metode uji membran filter. Hasil yang menunjukkan positif *E. coli* dilanjutkan ke uji kepekaan antibiotik. Keberadaan ESBL dikonfirmasi dengan uji sinergi double-disk menggunakan ceftazidime (30 g) dan kombinasi ceftazidime (30 g) dan asam klavulanat (10 g). Hasil uji genetik *E. coli* terhadap gen *CTX-M* menunjukkan persentase sebesar 46% dan *TEM* sebesar 10% (Rutuja, 2018.)

Penelitian yang dilakukan di Malaysia dan India menunjukkan *CTX-M* sebagai gen penghasil ESBL yang mendominasi di air sungai negara tersebut, dimana sungai merupakan sumber air yang di olah sebagai keperluan higiene sanitasi dalam kehidupan sehari-hari. Selain *CTX-M*, terdapat pula gen *TEM* dan *SHV* yang juga terkandung dalam sampel air tersebut. Adanya kontaminasi gen penghasil ESBL yang terdapat pada air sungai di berbagai negara di belahan dunia merupakan efek kumulatif populasi yang meningkat secara eksponensial. Peningkatan tersebut menyebabkan kepadatan penduduk yang menimbulkan

buruknya higiene sanitasi pada wilayah padat penduduk. Penggunaan antibiotik yang tidak rasional juga memicu kontaminasi bakteri penyebab ESBL pada air (Rutuja, 2018). Dengan demikian lingkungan air kondusif untuk transfer antar spesies, di mana bakteri penghasil ESBL dari berbagai sumber bersentuhan dengan berbagai penerima potensial yaitu manusia dan hewan (Gernot, 2017).

Penelitian yang dilakukan terhadap sampel ESBL yang berasal dari lingkungan di Indonesia yaitu identifikasi *E. coli* pada ayam broiler di kota Blitar. Metode *rectal swab* dilakukan pada penelitian ini dan dipatikan hasil berupa persentase gen *CTX-M* sebesar 97,8 %, yang artinya gen *CTX-M* mendominasi keseluruhan isolat *E. coli* pada sampel ayam broiler tersebut (Freshinta, 2020). Keterbaruan pengujian yang dilakukan penulis saat ini berupa identifikasi adanya *E. coli* penghasil ESBL yang berasal dari sampel air. Sampel tersebut di uji secara membran filter. Isolat yang menunjukkan positif *E. coli* berdasarkan uji KIA dan IMVIC dilanjutkan pada uji PCR untuk menentukan adanya gen *CTX-M*, *TEM* dan *SHV* pada sampel air yang diujikan. Sampel-sampel tersebut berasal dari beberapa kota besar di wilayah Jawa Timur, yaitu Surabaya, Sidoarjo, Gresik dan Kediri. Hasil penelitian gen ESBL dengan persentase sebesar 12% gen *CTX-M* dan 12% gen *TEM* menunjukkan adanya pembaruan penelitian yang dilakukan penulis. Penelitian tersebut juga membuktikan bahwa kontaminasi *E. coli* yang mengandung ESBL terdapat pada sampel air di beberapa wilayah di Jawa Timur.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisa nilai Molecular Weight pada 25 sampel air bersih mengandung *E. coli* yang berasal dari sampel uji di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya didapatkan kesimpulan sebagai berikut :

1. Persentase bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada sampel air bersih di BBLK Surabaya sebesar 24 % dari 25 sampel air bersih yang mengandung *E. coli*.

2. Genotipe penyusun *E. coli* pada sampel air bersih di BBLK Surabaya yang teridentifikasi yaitu gen *blaCTX-M* dan gen *CTX-M*.
3. Genotipe penyusun *E. coli* pada sampel air bersih di BBLK Surabaya yang teridentifikasi yaitu gen *blaCTX-M* sebesar 12% dan gen *blaTEM CTX-M* sebesar 12%.

#### SARAN

Bagi petugas kesehatan, dihimbau agar lebih aktif melakukan sosialisasi terhadap pentingnya higiene sanitasi lingkungan serta penggunaan obat secara efektif sehingga tidak memicu terjadinya mutasi genetik pada bakteri *E. coli* yang menyebabkan terjadinya resistensi terhadap obat tertentu karena bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang dapat berasal dari feses manusia.

Bagi pemerintah disarankan melakukan penyehatan lingkungan yang dikoordinir oleh petugas terkait kesehatan lingkungan, penyediaan sarana air bersih yang terkontrol kualitasnya secara mikrobiologi, melakukan pembinaan dan pemeriksaan kesehatan berkala pada penduduk yang belum mampu menerapkan pola hidup sehat. Selain itu pelacakan penyebaran bakteri resisten antibiotik dalam sampel air, seperti air limbah, keran dan air sumur, merupakan sumber informasi yang berguna yang dapat digunakan oleh pembuat kebijakan untuk membuat strategi manajemen risiko untuk lingkungan air.

Bagi peneliti selanjutnya dapat mengembangkan identifikasi terhadap bakteri Enterobacteriaceae lainnya yang mengandung gen ESBL pada sampel air, seperti *Klebsiella sp.*, *Citrobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, dan lain sebagainya. Identifikasi pendahuluan dapat dilakukan melalui uji fenotip sebelum melakukan uji genotip supaya mendapatkan hasil yang lebih akurat.

#### DAFTAR PUSTAKA

Alfanita, Arum Yusfi. 2017. *Distribusi Kuman Coliform pada Air Minum dan Air Bersih Rumah Tangga Non PDAM (Studi di Dusun Gintungan, Desa Gogik, Ungaran, Kabupaten*

- Semarang*). Universitas Muhammadiyah Semarang
- Dhawde, Rutuja, Ragini Macaden, et al. 2018. *Antibiotic Resistance Characterization of Environmental E. coli Isolated from River Mula-Mutha, Pune District, India*. Mumbai. International Journal of Environmental Research and Public Health 2018, 15, 1247.
- E. Amaya, D. Reyes, M. Paniagua, et al. 2012. *Antibiotic Resistance Patterns Of Escherichia Coli Isolates From Different Aquatic Environmental Sources In Leo´ N, Nicaragua*. Clinical Microbiology and Infection, Volume 18 Number 9, September 2012
- Hasibuan, Mirzan. 2017. *Deteksi Gen Resisten CTX-M, SHV, TEM, OXA-48 pada Isolat Klinis Bakteri Escherichia coli dan Klebsiella pneumoniae yang Tergolong Multiple Drug Resisten Organisms*. Medan. Universitas Sumatera Utara Fakultas MIPA
- Kemkes RI. 2017. *Standar Baku Mutu Kesehatan Lingkungan dan Persyaratan Kesehatan Air untuk Keperluan Higiene Sanitasi, Kolam Renang, Solus per Aqua dan Pemandian Umum*. Jakarta. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Mondal, Aftab Hossain, et al. 2018. *Prevalence and Diversity of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M variants Among Multidrug Resistant Klebsiella sp. from an Urban Riverine Environment in India*. Department of Biosciences, Jamia Millia Islamia, New Delhi, India. International Journal of Environmental Health Research <https://doi.org/10.1080/09603123.2018.1515425>
- Prasetya, Yulianto Ade. 2018. *Deteksi Gen SHV pada Isolat Klinik Escherichia coli Penghasil Extended Spectrum Beta Lactamase-s (ESBL) dengan Metode Polymerase Chain Reaction (PCR) dari Urin Pasien di RSUD dr. Soetomo Surabaya*. Surabaya. Al - Kaunyah; Journal of Biology, 11(2), 2018, 91-98

- Rahayu, Winiati P., *et al.* 2018. *Escherichia coli : Patogenitas, Analisis, dan Kajian Resiko*. Bogor. IPB Press
- Rawat, Deepti, and Deepthi Nair. 2010. *Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase in Gram Negative Bacteria. New Delhi, India*. Jurnal of Global Infectious Disease
- Wibisono, Freshinta Jellia, Bambang Sumiarto, *et al.* 2020. *CTX Gene of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producing Escherichia coli on Broilers in Blitar, Indonesia*. Yogyakarta. Sys Rev Pharm 2020;11(7): 396-403. Gajah Mada University
- Zarfel, Gernot, Michaela Lipp, *et al.* 2017. *Troubled water under the bridge: Screening of River Mur water reveals dominance of CTX-M harboring Escherichia coli and for the first time an environmental VIM-1 producer in Austria*. Institute of Hygiene, Microbiology and Environmental Medicine, Medical University Graz, Graz, Austria