

SKRIPSI

**IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI BIOFILM
ESCHERICHIA COLI FESES PADA MEDIA *CONGO RED***



Oleh:
CLAUDIO AMANDA
NIM: 2110262061

**PROGRAM STUDI SARJANA TERAPAN TEKNOLOGI LABORATORIUM MEDIS
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2025**



a).Tempat/tgl:Padang, 08-05-2001; b).Nama Orang Tua : (Ayah) Tri Atmaja (Ibu) Nopa Frianti; c).Program Studi : Sarjana Terapan TLM; d).Fakultas Ilmu Kesehatan; e).NIM : 2110262061; f).Tgl Lulus : Oktober 2025 ; g).Predikat lulus : Sangat Memuaskan ; h).IPK : 3,71; i).Lama Studi : 4 Tahun; j). Alamat: Asrama TNI-AD Ganting Blok A Kodim No. 9

IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI BIOFILM *ESCHERICHIA COLI* FESES PADA MEDIA CONGO RED

SKRIPSI

Oleh: Claudio Amanda


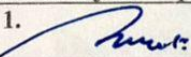

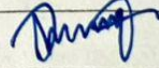
Pembimbing: Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed, Meri Wulandari, S.S.T.,
M.Biotek

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan bakteri yang umum ditemukan di saluran pencernaan manusia dan dapat menyebabkan berbagai infeksi, termasuk infeksi saluran kemih dan gangguan pencernaan. Salah satu mekanisme pertahanan *Escherichia coli* terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim adalah pembentukan biofilm, yang dapat meningkatkan resistensi terhadap antibiotik dan sistem imun. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi biofilm *Escherichia coli* yang diisolasi dari feses pasien diare menggunakan media *Congo Red*. Metode penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorium di Laboratorium Biomedik Universitas Perintis Indonesia pada Februari–Juni 2025. Sampel diambil dari feses pasien diare, kemudian dilakukan isolasi dan identifikasi *Escherichia coli* melalui kultur pada media Endo Agar, pewarnaan gram, serta uji biokimia. Selanjutnya, kemampuan pembentukan biofilm diuji pada media *Congo Red* dengan pengamatan perubahan warna koloni. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Escherichia coli* yang dikultur pada media *Congo Red* selama 24 jam membentuk biofilm yang ditandai dengan perubahan warna koloni menjadi hitam. Kesimpulan penelitian ini adalah *Escherichia coli* feses mampu membentuk biofilm pada media *Congo Red*, yang dapat diidentifikasi secara visual. Saran untuk penelitian selanjutnya adalah penggunaan metode kuantitatif dan pengujian resistensi antibiotik untuk mendukung hasil karakterisasi biofilm.

Kata Kunci: *escherichia coli*, biofilm, *congo red*, identifikasi, karakterisasi

Skrripsi ini telah di pertahankan di depan siding penguji dan dinyatakan lulus pada..... Abstrak telah di setuju oleh penguji

Tanda Tangan 	1. 	2. 	3. 
Claudio amanda	Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed	Meri Wulandari, S.S.T., M.Biotek	Dr.Almurdi,DMM..M.Kes

Mengetahui,

Ketua Program Studi : Dr. apt. Dewi Yudiana Shinta, M. Si


Tanda Tangan



a). Place/date::Padang, 08-05-2001; b). Parents name: (Father) Tri Atmaja (Mother) Nopa Frianti; c). Study Program: TLM Applied Bachelor;; d). Faculty of Health Sciences; e).NIM : 2110262061; f). Graduation Date: October 2025; g). Passing predicate: Ery Satisfactory; h).IPK : 3,71; i). Length of Study: 4 Years; j). Adress: Asrama TNI-AD Ganting Blok A Kodim NO 9

IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF FETAL ESCHERICHIA COLI BIOFILM ON CONGO RED MEDIATHESIS

By: Claudio Amanda

Supervisor: Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed, Meri Wulandari, S.S.T., M.Biotek

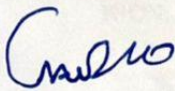



ABSTRACT

Escherichia coli is a bacterium commonly found in the human digestive tract and can cause various infections, including urinary tract infections and digestive disorders. One of *Escherichia coli*'s defense mechanisms against extreme environmental conditions is biofilm formation, which can increase resistance to antibiotics and the immune system. This study aims to identify and characterize biofilm formation of *Escherichia coli* isolated from diarrheal patient feces using Congo Red medium. The research was conducted as a laboratory experimental study at the Biomedical Laboratory of Universitas Perintis Indonesia from February to June 2025. Samples were taken from diarrheal patient feces, followed by isolation and identification of *Escherichia coli* through culture on Endo Agar, Gram staining, and biochemical tests. Subsequently, the ability to form biofilm was tested on Congo Red medium by observing changes in colony color. The results showed that *Escherichia coli* cultured on Congo Red medium for 24 hours formed biofilm indicated by the colony color changing to black. The conclusion of this study is that fecal *Escherichia coli* can form biofilm on Congo Red medium, which can be visually identified. Suggestions for further research include using quantitative methods and antibiotic resistance testing to support biofilm characterization results.

Kata Kunci: *Escherichia coli*, biofilm, Congo Red, Identification, Characterization

Defended in front of the examiner and declared passed on.....

The abstract has been approved by the examiner

Signature	1.	2.	3.
			
Claudio amanda	Putra Rahmadea Utami, S.Si., M.Biomed	Meri Wulandari, S.S.T., M.Biotek	Dr. Almurdi, DMM., M.Kes

Sincerely



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Escherichia coli merupakan bakteri yang umum ditemukan di saluran pencernaan manusia, serta dapat menyebabkan infeksi saluran kemih (ISK). Data menunjukkan bahwa *E. coli* berkontribusi signifikan terhadap ISK, dengan prevalensi mencapai 90-100 kasus per 100.000 penduduk per tahun (Utari, 2018). *E. coli* juga dapat mengkontaminasi air dan makanan. Bakteri biasanya mencari cara untuk melindungi diri dari kondisi ekstrim, dan pertahanan bakteri ini diduga kuat dapat membentuk biofilm (Fadhila & Sari, 2019).

Infeksi saluran kemih adalah infeksi yang terjadi pada saluran kemih, yang terdiri dari uretra, kandung kemih, ureter dan ginjal. Ini dapat terjadi pada orang dari semua usia, tetapi biasanya terjadi pada wanita. Sekitar 150 juta kasus ISK setiap tahun terjadi di seluruh dunia, menjadikannya infeksi bakteri yang paling umum (Abidah, 2020). *Escherichia coli* merupakan salah satu jenis bakteri Gram negatif yang berada pada pencernaan manusia. Bakteri yang ditemukan oleh *Theodor Escherich* ini biasanya hidup pada tinja dan dapat menyebabkan masalah pencernaan seperti diare dan muntaber (Sitaba *et al.*, 2022).

Pembentukan biofilm sebagai patogenesis penyakit, dapat dideteksi menggunakan beberapa metode, antara lain: *Microtiter Plate Assay* (MPA), *Congo Red Agar* (CRA) dan *Tube Method* (TM). Sampai saat ini *Metode microtiter Plate Assay* (MPA) dinyatakan sebagai gold standart pemeriksaan

biofilm. Biofilm merupakan komunitas mikroorganisme yang terorganisasi secara kompleks dan melekat pada permukaan, dilindungi oleh matrik polimer ekstra seluler yang melindungi bakteri dari pengaruh lingkungan. Salah satu bakteri yang banyak membentuk biofilm adalah *Escherichia coli* yang berperan sebagai flora normal maupun patogen pada manusia. Dalam keadaan patogen, *Escherichia coli* dapat menyebabkan berbagai infeksi, seperti infeksi saluran kemih (ISK), diare, dan infeksi sistemik (Castillo *et al.*, 2023). Apabila jumlah bakteri ini berada di bawah batas normal, bakteri *Escherichia coli* dapat bermanfaat. Jumlah bakteri ini lebih tinggi dari batas normal, bakteri *Escherichia coli* dapat menyebabkan infeksi (Lubis *et al.*, 2024).

Biofilm adalah kumpulan bakteri yang berinteraksi satu sama lain dan melekat pada permukaan padat. Biofilm terbungkus dalam matriks ekstraseluler polisakarida. Biofilm ini menjadi masalah kesehatan yang semakin serius. Lebih dari 65% infeksi pada manusia dikaitkan dengan biofilm bakteri. Salah satu risiko biofilm bagi kesehatan manusia adalah infeksi yang dapat muncul dalam aliran darah dan traktus urinarius jika sel biofilm lepas dari permukaannya. Bakteri Gram negatif menghasilkan endotoksin yang dapat mengurangi respons imun tubuh. Bakteri yang membentuk biofilm juga biasanya resisten terhadap antibiotik dan respons imun tubuh lainnya (Fadhila & Sari, 2019).

Congo Red digunakan untuk mengidentifikasi *Escherichia coli* membentuk biofilm. *Escherichia coli* yang menghasilkan polisakarida akan mengubah warna koloni menjadi gelap, menunjukkan bahwa ada pembentukan biofilm. Mekanisme ini terjadi ketika polisakarida yang dibuat oleh bakteri

berinteraksi dengan pewarna *Congo Red* selama metabolisme mereka (Januariawan *et al.*, 2019).

Penelitian ini akan menghubungkan penggunaan media *Congo Red* sebagai alat deteksi pembentukan biofilm *Escherichia coli* dengan potensi pengembangan agen anti biofilm berbasis senyawa alami. Melalui pendekatan ini, diharapkan dapat ditemukan strategi yang efektif untuk mengurangi dampak pembentukan biofilm *Escherichia coli* pada berbagai konteks, baik klinis maupun lingkungan (Reichhardt *et al.*, 2015) Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk meneliti tentang **“Identifikasi dan Karakterisasi Biofilm *Escherichia coli* Feses Pada Media *Congo Red*”**

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas perumusan masalah pada penelitian ini adalah bagaimana identifikasi dan karakterisasi biofilm *Escherichia coli* feses pada media *Congo Red*.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui hasil identifikasi dan karakterisasi biofilm dari bakteri *Escherichia coli* yang berasal dari feses pada media pertumbuhan *Congo Red*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Dalam penelitian yang dilakukan mempunyai beberapa tujuan khusus yakni :

1. Untuk mengetahui Identifikasi Biofilm Bakteri *Escherichia coli* yang berasal Feses pada media *Congo Red*

2. Untuk mengetahui Karakterisasi Biofilm Bakteri *Escherichia coli* yang berasal dari *Feses* pada media *Congo Red*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Peneliti

Adapun Manfaat dari penelitian ini dapat dijadikan sebagai bahan masukan dan pembelajaran yang bermanfaat serta memperluas wawasan pengetahuan untuk perkembangan keilmuan peneliti tentang Biofilm *Escherichia coli* Feses pada *Congo Red*

1.4.2 Bagi Institusi Pendidikan

Sebagai referensi bagi mahasiswa lain di Universitas perintis Indonesia untuk meneliti lebih lanjut lagi identifikasi dan karakterisasi Biofilm *Escherichia coli* feses pada media *congo red*.

1.4.3 Bagi Teknisi Laboratorium

Adapun manfaat dari penelitian ini untuk Teknisi Laboratorium yaitu dapat memberikan informasi dan sumber pengetahuan terbaru terhadap identifikasi dan karakterisasi biofilm *Escherichia coli* feses pada media *Congo Red*.

BAB V PEMBAHASAN

5.1 Identifikasi dan Karakteristik Bakteri *Escherichia Coli*

Berdasarkan tabel (4.1) bakteri pada media *Endo Agar* menghasilkan koloni berwarna merah metalik dan koloni tersebut sesuai dengan ciri khas bakteri *Escherichia coli*. Artinya dari sampel feses yang mengandung bakteri *Escherichia coli* terdapat pada 1 sampel yang diuji. Penelitian ini, setelah bakteri isolasi pada media *Endo Agar*, maka diketahui bakteri tersebut merupakan *Escherichia coli*, selanjutnya dilakukan pewarnaan gram untuk mengetahui sifat dan morfologi dari bakteri. Berdasarkan dari hasil pengamatan mikroskop dengan pembesaran 100x didapatkan hasil pewarnaan gram dari bakteri *Escherichia coli* pada media *Endo Agar* dengan memiliki ciri-ciri bakteri seperti berbentuk *coccusbasil*, susunan tunggal dan bersifat gram.

Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Indrayati (2018) tentang Peranan monosodium glutamate sebagai media penyubur alternative pengganti brain-heart infusion broth (BHIB) untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* ditemukan hasil pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* (gram negatif) yang tumbuh baik pada media MSG, maka media ini dapat dijadikan sebagai penyubur alternatif dan memiliki potensi yang sebagai media penyubur pengganti media BHIB untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*. Media MSG sangat efektif sebagai media penyubur untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* karena koloni yang tumbuh pada media endo agar terlihat jelas,

ukuran terlihat jelas mempermudah peneliti saat pengamatan melakukan sehingga alternatif ini rekomendasikan dapat oleh media di peneliti sebagai media penyubur untuk pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Escherichia coli adalah bakteri jenis gram negatif yang berbentuk batang pendek, atau coccobasil, dan memiliki kemampuan untuk bergerak melalui flagella. Karena *Escherichia coli* dapat menimbulkan gejala penyakit saluran pencernaan seperti diare, kholera, gastroenteritis, dan lainnya, keberadaan *Escherichia coli* pada makanan dan minuman menunjukkan bahwa makanan dan minuman tidak bersih dan bahwa ada kontaminasi tinja manusia pada air (Hutasoit, 2020).

Koloni yang teridentifikasi positif *Escherichia coli* pada media Endo Agar kemudian diuji sebagai kelompok fecal coli menggunakan pengujian Sulfide Indol Motility (SIM), Methyl Red, Voges Proskauer, dan Citrate (IMVIC). Dari masing-masing isolat, satu ose diinokulasikan ke dalam media biakan tersebut. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37 °C selama 2 hari, kecuali untuk medium MR-VP pada uji Methyl Red yang mengalami perpanjangan waktu inkubasi menjadi 5-7 hari. Isolat *Escherichia coli* yang menunjukkan reaksi positif pada tes IMVIC kemudian diambil satu ose dan diinokulasikan ke dalam media nutrient agar miring untuk dijadikan stok isolat bagi pemeriksaan selanjutnya (Suardana *et al.*, 2018).

Bakteri yang tumbuh pada media penyubur BHIB dan media MSG yang kemudian di kultur pada media Endo Agar yang merupakan media selektif differensial dimana media dapat ditumbuhi oleh satu atau lebih mikroorganisme tertentu dengan ciri khas tertentu. Suspensi bakteri yang dikultur dari media BHIB

dan media MSG terlihat ciri-cirinya koloni besar-besar, elevasi cembung smooth, dan berwarna merah tua metalik. Bakteri *Escherichia coli* akan tumbuh pada medium Endo agar dengan ciri-ciri koloni besar-besar, warna merah metalik dan bentuk basil dilihat dari mikroskop.

5.2 Uji Biokimia pada Media *Endo Agar*

Berdasarkan hasil penelitian pada (tabel 4.2) Uji biokimia dari media *Endo agar* bakteri *Escherichia coli* di dapatkan hasil TSIA hasilnya positif adanya gas sehingga membuat gas ke atas berwarna kuning yang memfermentasikan karbohidrat, uji sitrat hasilnya positif dari warna hijau menjadi biru karena bakteri mampu menggunakan sitrat untuk karbon, uji MR hasilnya positif karna berubah warna menjadi merah dan vp hasilnya negatif karna tidak berubah warna, dan pada uji gula – gula bakteri *Escherichia coli* mendapatkan hasil positif.

Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Gunawan (2022) tentang Profil Uji Biokima Hasil Isolasi *Escherichia coli* pada Feses, Air Minum Dan Air Saluran Buangan Kandang Sapi Bali Di Kelompok Tani Ternak Menemeng (KT2M) Kabupaten Lombok Tengah ditemukan hasil Uji Biokimia yang di ambil dari isolat *Escherichia coli* pada feses, air minum dan air saluran buangan kandang di Kelompok Tani Ternak Menemeng (KT2M) bahwa positif *Escherichia coli*.

Uji gula gula menggunakan larutan laktosa, maltose, mannitol, dan sukrosa yang ditunjukkan dengan indikator merah atau merah brom timol (BTB). Isolasi bakteri dimasukkan ke dalam media uji dan diinkubasi selama satu hari

pada suhu 37°C Apabila warna medium berubah menjadi kuning, itu menunjukkan bahwa bakteri sedang menghasilkan asam fermentasi. Bakteri dimasukkan ke dalam media TSIA miring dan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasilnya ditunjukkan dengan bagian buat media berwarna kuning, yang menunjukkan bahwa media menghasilkan asam, dan bagian slant berwarna merah, yang menunjukkan bahwa media bersifat basa (Aini *et al.*, 2022).

Bakteri ini menunjukkan kemampuan untuk memfermentasi berbagai jenis gula, tetapi beberapa bakteri *Escherichia coli* tidak memfermentasi laktosa, maltosa, dan sukrosa yang seharusnya sifat *Escherichia coli*. Hasil uji TSIA beberapa kali menunjukkan *Escherichia coli* yang tidak memfermentasi laktosa dan mendapatkan hasil +/+, meskipun seharusnya hasil uji TSIA adalah +. Hasil ini sesuai dengan temuan penelitian pada koloni merah muda dan ungu, di mana uji fermentasi meragi seluruh karbohidrat tetapi hasil uji TSIA adalah -/+ dan -/+g.

Uji sitrat menunjukkan kemampuan organisme untuk menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi. Jika bakteri dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya, pH akan meningkat dan medium biakan akan berwarna biru. 1 ose PCA miring dimasukkan ke dalam broth MRVP dan inkubasikan selama kurang lebih 24 jam pada suhu 35 derajat Celcius. Perubahan warna menunjukkan dari hijau menjadi warna biru karena sitrak sebagai sumber karbon bakteri.

Koloni *Escherichia coli* yang telah terkontaminasi dengan pewarnaan gram selanjutnya dilakukan peneguh dengan uji IMViC. Untuk uji indol dilakukan dengan menumbuhkan *Escherichia coli* kedalam. Uji Methyl red total 1 sampel

yang diisolasi dilakukan uji biokimia. Indol yang dihasilkan dideteksi dengan menambahkan reagen Kovac's ini yang menghasilkan cincin berwarna merah. Lapisan Alkohol berkonsentrasi berwarna merah berbentuk cincin terdapat dibagian atas. Hasil indol positif dinyatakan dengan adanya cincin merah hal ini disebabkan karena indol bereaksi dengan aldehida.

5.3 Uji Biofilm *Escherichia coli* pada Media Congo Red

Biofilm terdiri dari agregat sel mikroorganisme yang kompleks yang terbentuk dan terorganisir untuk membentuk lingkungan mikroorganisme. Komponen utama biofilm biasanya terdiri dari matriks zat polimer ekstraseluler (EPS), protein, atau DNA ekstraseluler (eDNA). Biofilm juga digunakan sebagai cara untuk bertahan dalam kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, seperti perubahan suhu dan nutrisi. Bakteri yang mampu menghasilkan biofilm juga dapat lolos dari sistem kekebalan inang dan berpotensi menjadi lebih tahan terhadap antibiotik (Masrukhin *et al.*, 2021).

Uji biofilm *Escherichia coli* mengandung biofilm pada media Congo red yg di inkubasi selama 24 jam, dan hasil setelah inkubasi di media Congo red bakteri *Escherichia coli* positif ada biofilm dengan di tandai ada nya perubahan warna menjadi warna hitam. Secara umum, beberapa faktor lingkungan memengaruhi produksi biofilm pada bakteri. Ini termasuk suhu, osmolaritas, konsentrasi ion besi, ketersediaan nutrisi, permukaan material penempelan biofilm, dan keasaman lingkungan. Selain faktor lingkungan, faktor genotype bakteri juga dianggap berperan (Masrukhin *et al.*, 2021).

Biofilm merupakan bentuk kompleks agregat sel mikroorganisme yang terbentuk dan terorganisir guna membuat lingkungan mikro dari mikroorganisme tersebut. Secara umum biofilm tersusun atas matriks extracellular polymeric substances (EPS), protein, dan atau DNA ekstraseluler (eDNA) (Stewart, 2002; Tam *et al.*, 2020). Biofilm pada umumnya juga digunakan sebagai strategi bertahan pada suatu kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan seperti fluktuasi suhu maupun nutrisi (Rollet *et al.*, 2008). Selain itu bakteri yang mampu menghasilkan biofilm, dapat lolos dari system imun inang dan berpotensi lebih resisten terhadap antibiotik. Pada bakteri patogen seperti *S. aureus* biofilm berasosiasi dengan karakter resistensi antibiotik, misalnya, Methicillin Resistant *S. aureus* (MRSA) menghasilkan biofilm lebih tinggi dibandingkan dengan Methicillin Susceptible *S. aureus* (MSSA) (Mccarthy *et al.*, 2015; Lade *et al.*, 2019).

Biofilm adalah komunitas bakteri yang terorganisir yang terkumpul dalam metrik polimer yang dibuat oleh bakteri itu sendiri, yang memiliki kemampuan untuk menempel pada permukaan baik hidup maupun tak hidup. Gumpalan multiseluler dalam biofilm terbungkus oleh matriks ekstraselular atau zat polimer ekstraselular (EPS) yang dibuat oleh bakteri itu sendiri. Eyang dibuat dan disekresikan oleh bakteri dan mikroorganisme lainnya, membantu sel beradaptasi, tahan, dan berfungsi di lingkungannya. Kapsul, eksopolimer, sekresi mikroba, dan slime adalah semua sinonim EPS. Bakteri gram negatif dan gram positif menghasilkan eksopolisakarida (Purbowati, 2017).