

## RESISTENSI ANTIBIOTIK TERHADAP *E. COLI* YANG DIISOLASI DARI PETERNAKAN AYAM BROILER DI KABUPATEN SUBANG<sup>1</sup>

Niasono, A.B<sup>1</sup>, Suandy, I<sup>1</sup>, Telussa, R<sup>3</sup>, Utomo, G.B<sup>3</sup>, Sukarno, A.H<sup>3</sup>, Setyawan, E<sup>3</sup>, Latif, H<sup>2</sup>, Purnawarman, T<sup>2</sup>, Gordoncillo, M.J.N<sup>4</sup>, Isriyanthi, N.M.R<sup>1</sup>, Ma'arif S<sup>1</sup>, Schoonman, L<sup>3</sup>, McGrane, J<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan, Kementerian Pertanian RI,

<sup>2</sup> Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

<sup>3</sup> Food and Agriculture Organization of the United Nations, Emergency Centre for Transboundary Animal Diseases, Jakarta, Indonesia;

<sup>4</sup> Food and Agriculture Organization of the United Nations, Regional Office for Asia-Pacific, Bangkok, Thailand

### ABSTRAK

Resistensi antibiotik pada bakteri patogen unggas adalah masalah pada industri perunggasan Indonesia. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang status resistensi antibiotik saat ini di *Escherichia coli* (*E. coli*) dari lingkungan peternakan broiler. Isolat *E. coli* diperoleh dari *litter* kandang menggunakan metode boot swab. Isolat dikarakterisasi secara morfologis dan biokimia menggunakan uji IMVIC. Uji resistensi antimikroba dilakukan dengan menggunakan metode agar dilusi terhadap 9 antibiotik. *E. coli* diisolasi dari 74 sampel *boot swab*. Lebih dari 90% resisten terhadap setidaknya tiga atau lebih antibiotik. Resistansi yang diperoleh adalah tetrasiklin 97,3%, sulfamonomethaxazol 87,8%, trimethoprim 74,3%, ampicilin 68,9%, asam nalidiksat 64,8%, ciprofloxacin 45,9%, enrofloxacin 40,5%, gentamisin 28,4%, dan chloramphenicol 10,8%. Temuan penelitian ini memperlihatkan tingginya tingkat resistensi antibiotik di lingkungan broiler, hal ini memiliki dampak negatif bagi kesehatan manusia dan hewan.

Keywords: *boot swab*, broiler, *Escherichia coli*, resistensi antimikroba.

### PENDAHULUAN

Antibiotik bekerja secara sitostatik atau sitotoksik untuk menghilangkan mikroorganisme. Antibiotik mempunyai mekanisme kerja menghambat proses sintesis protein sel bakteri, asam deoksiribonukleat (DNA) dan ribonukleat asam (RNA). (Zaman *et al.* 2017). Antibiotik pada peternakan digunakan dengan tujuan: sebagai pengobatan, *metaphylactic*, *prophylactic* dan pemacu pertumbuhan (Noor dan Poeloengan 2004). Dosis yang diserap atau dimetabolisme oleh individu hewan atau orang, berkisar 10-80%, dengan sisanya diekskresikan sebagai senyawa aktif melalui urin dan kotoran ke lingkungan yang dapat mengandung mikroorganisme resisten dan gen resistensi antimikroba (FAO 2018).

Resistensi adalah kemampuan bakteri untuk beradaptasi terhadap paparan antibiotik (Spellberg *et al.* 2013). Dampak dari resistensi antibiotik adalah pengobatan akan menjadi lebih sulit dan membutuhkan biaya kesehatan yang lebih tinggi (Noor dan Poeloengan 2004). Penggunaan antibiotik yang tidak rasional dan tidak terkendali merupakan sebab utama penyebaran resistensi antibiotik secara global, sehingga terjadi bakteri yang multiresisten terhadap sekelompok antibiotik.

Bakteri yang berasal dari peternakan akan tersebar luas ke lingkungan terutama melalui pupuk kandang yang dapat menjadi sumber resistansi bagi peternakan maupun manusia (Wegener 2012). Tanah/lingkungan merupakan sumber utama dari resistensi, terdapat hubungan antara manusia, hewan dan lingkungan yang memungkinkan terjadi perpindahan bakteri termasuk *mobile genetic elements* (MGEs) antar spesies bakteri (Woolhouse *et al.* 2015).

## TUJUAN

Tujuan penelitian ini mengukur tingkat kejadian resistensi antibiotik terhadap bakteri *E. coli* yang diisolasi dari peternakan broiler di Kabupaten Subang.

## MATERI DAN METODE

### Disain Penelitian

Metode penelitian menggunakan *cross sectional study* dengan pola pengambilan sampel secara *stratified random sampling*. Sampel yang digunakan adalah *boot swab* pada kandang peternakan ayam broiler di Kabupaten Subang. Unit sampling dari penelitian ini adalah peternakan ayam broiler yang berada di Kabupaten Subang, dengan kriteria ayam berumur minimal 21 hari. Besaran sampel (n) ditentukan berdasarkan jenis manajemen yang terbagi dalam pola manajemen kemitraan inti dan pola manajemen mandiri. Besaran sampel dihitung berdasarkan Daniel dan Cross (2014), dengan asumsi prevalensi (p) 50%, tingkat kepercayaan 95%, tingkat kesalahan 8%. Besaran sampel yang diperoleh sebanyak 74 sampel terdiri dari 71 sampel peternakan kemitraan dan 3 sampel peternakan mandiri.

### Metode Pengambilan Sampel *Boot swab*

Pengambilan sampel metode *boot swab* menggunakan 2 (dua) pasang *boot swab* di setiap peternakan ayam broiler yang menjadi target sampel. Sampel diambil dengan cara melangkah minimal 100 langkah di dalam kandang ayam yang memiliki kriteria umur ayam minimal 21 hari (Mueller-Doblies *et al.* 2009).

### Metode Isolasi *Escherichia coli*

Pengujian yang dilakukan untuk isolasi *E. coli* adalah dengan menggunakan sampel *boot swab* peternakan ayam broiler. Media yang digunakan adalah BPW, MCA, EMBA, dan konfirmasi biokimia (pewarnaan gram, oksidase, indol, sitrat, *methyl red voges-proskauer*) (Abdi-Hachesoo *et al.* 2017).

## Pengujian Resistensi Antibiotik

Isolat *E. coli* dari sampel *boot swab* kemudian dilanjutkan dengan pengujian *antimicrobial susceptibility testing* (AST) yang bertujuan untuk menguji kepekaan antibiotik. Metode pengenceran (*dilution method*) digunakan untuk mengukur kepekaan masing-masing isolat. *Minimum inhibitory concentration* (MIC) antibiotik terhadap *E. coli* akan diukur dan ditentukan sebagai konsentrasi minimum antibiotik yang menghambat pertumbuhan isolat bakteri. Jenis antibiotik yang digunakan pada AST didasarkan pada jenis antibiotik dalam EFSA (2012) yang digunakan dalam pemantauan AMR untuk *Salmonella* spp. dan *E. coli* melalui makanan. Standar MIC untuk pengujian AST berdasarkan CLSI VET01S (2015) dan CLSI M100 (2018) (Tabel 1).

Tabel 1 Standar MIC kontrol isolat

Jenis Antibiotika	Kontrol isolat (µg/mL)			MIC (µg/mL)		
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	S	I	R
Sulfametoksazol	≤ 9.5	≤ 9.5	152-608	≤ 38	-	≥ 76
Trimetoprim	≤ 0.5	≤ 0.5	8-32	≤ 2	-	≥ 4
Chloramphenicol	2-16	2-8	-	≤ 8	16	≥ 32
Tetrasiklin	0.12-1	0.5-2	8-32	≤ 4	8	≥ 16
Gentamisin	0.12-1	0.25-1	0.5-2	≤ 4	8	≥ 16
Ampisilin	0.5-2	2-8	-	≤ 8	16	≥ 32
Asam nalidiksarat	-	1-4	-	≤ 16	-	≥ 32
Siprofloksasin	0.12-0.5	0.004-0.016	0.12-1	≤ 1	2	≥ 4
Enrofloksasin	0.03-0.12	0.008-0.03	1-4	≤ 0.25	0.5-1	≥ 2

S: Susceptible; I: Intermediate; R: Resistance

## Analisis Data

Data yang diperoleh dari penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan gambar.

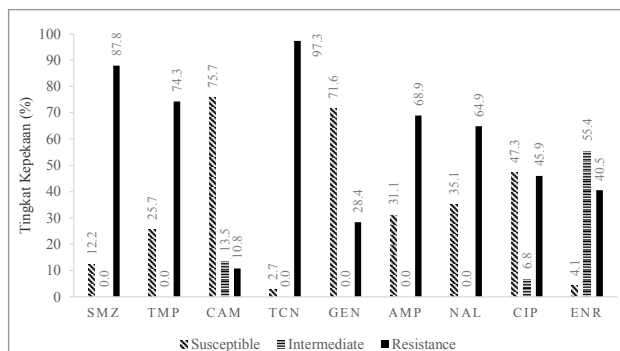
## HASIL

### Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* diisolasi dari seluruh *boot swab*. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang bersifat komensal yang normal ditemukan pada saluran pencernaan maupun di lingkungan. Penelitian ini dapat mengisolasi bakteri *E. coli* dari seluruh sampel, hal ini dapat terjadi karena sampel yang diperoleh merupakan sampel lingkungan sehingga dapat diperoleh tingkat prevalensi yang tinggi. Bakteri *E. coli* merupakan mikroflora normal pada saluran pencernaan unggas maupun manusia. Bakteri ini merupakan indikator kejadian kontaminasi pada pangan (Muhammad *et al.* 2009).

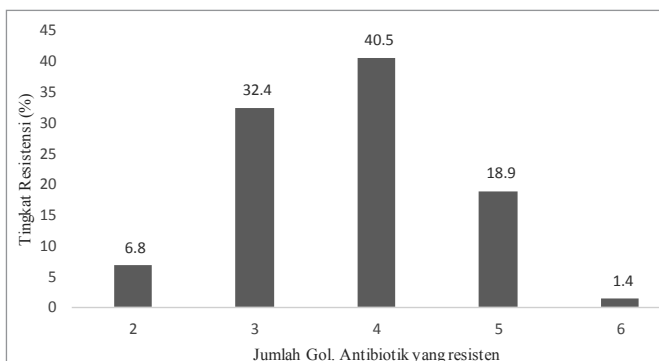
## Uji Resistensi Antibiotik

Sebanyak 74 isolat *E. coli* diuji dengan metode agar dilusi untuk menentukan profil resistensi yang dimiliki oleh 9 jenis antibiotik. Hasil pengujian resistensi antibiotik pada isolat *E. coli* menunjukkan resistensi antibiotik tertinggi pada jenis antibiotik tetrasiklin sebesar 97.3%, sulfametoksazol 87.8%, trimetoprim 74.3%, ampisilin 68.9%, asam nalidiksat 64.8%, siprofloksasin 45.9%, enrofloksasin 40.5%, gentamisin 28.4% serta kloramfenikol sebesar 10.8%. (Gambar 1).



Gambar 1 Tingkat kepekaan bakteri *E. coli* terhadap antibiotik sulfametoksazol (SMZ), trimetoprim (TMP), kloramfenikol (CAM), tetrasiklin (TCN), gentamisin (GEN), ampisilin (AMP), asam nalidiksat (NAL), siprofloksasin (CIP), enrofloksasin (ENR)

Isolat *E. coli* yang diuji memperlihatkan sebanyak 93.2% telah resisten terhadap lebih dari 2 jenis antibiotik. Pola resistensi isolat *E. coli* memperlihatkan terjadi *multidrug resistance* (MDR) dengan persentase tertinggi pada resistensi terhadap 4 jenis antibiotik yakni sebesar 40.5% (Gambar 2). Jiang *et al.* (2011) menunjukkan telah terjadi MDR sebanyak 81% dengan pola terbanyak pada 5-6 jenis antibiotik.



Gambar 2 Pola resisten isolat *E. coli*

## PEMBAHASAN

Penelitian ini diperoleh isolat yang bersifat *intermediate* terhadap antibiotik enrofloksasin sebesar 55.4%. Hal ini perlu memperoleh perhatian dikarenakan dapat berpotensi menjadi resisten di masa mendatang. Antibiotik jenis enrofloksasin merupakan salah satu sediaan antibiotik golongan fluoroquinolon yang sering digunakan pada peternakan ayam. Mekanisme utama kejadian resistensi golongan fluoroquinolon adalah terdapat modifikasi pada DNA gyrase dan topoisomer IV (Hu *et al.* 2017). Fluoroquinolon merupakan obat yang penting pada kasus infeksi yang serius pada manusia (Colobatiu *et al.* 2014). Fluoroquinolon dan trimetoprim-sulfametoksazol merupakan pengobatan lini pertama akibat infeksi bakteri ini (Muhammad *et al.* 2009). Kejadian MDR pada *E. coli* dapat menimbulkan suatu masalah kesehatan bagi manusia dan lingkungan karena bakteri ini mampu mentransfer gen resisten ke bakteri patogen. *Litter* kandang yang berasal dari peternakan mengandung bakteri yang telah resisten sehingga ketika digunakan sebagai pupuk hal tersebut dapat menjadi problem bagi lingkungan (Furtula *et al.* 2010).

Woolhouse *et al.* (2015) menyatakan terdapat kesamaan gen resistensi isolat klinik dengan gen yang ditemukan pada isolat dari tanah. Penggunaan berkepanjangan dari satu antibiotik mengakibatkan resistensi terhadap beberapa antibiotik, walaupun memiliki perbedaan secara struktural. Hal tersebut dapat terjadi melalui mekanisme perpindahan gen yang terdapat pada plasmid dan transposon. Penyebaran gen resistensi juga dapat terjadi melalui kontak langsung atau tidak langsung, melalui makanan, air, dan kotoran hewan ke lahan pertanian (Marshall dan Levy 2011). Keberlangsungan hidup bakteri resisten di lingkungan sangat kompleks. Sejumlah faktor seperti suhu, paparan radiasi matahari, pH, jenis tanah, dan biokompleksitas mikroba mempengaruhi berapa lama bakteri resisten dapat berkembangbiak, mati, dan terjadi pertukaran/penyebaran gen resistensi (FAO 2018). Pengendalian resistensi antibiotik dapat dilakukan melalui manajemen penggunaan antibiotik atau mempersempit penyebaran dari bakteri resisten (Wegener 2012).

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

Bakteri *E. coli* diisolasi dari seluruh sampel *boot swab*. Prevalensi resistensi tertinggi terjadi pada antibiotik jenis tetrasiklin yakni sebanyak 97.3%. Ditemukan 93.2% dari sampel *E. coli* adalah MDR dengan prevalensi tertinggi pada 4 jenis antibiotik sebesar 40.5%.

## Saran

- Perlu dilakukan rotasi penggunaan antibiotik dengan menggunakan jenis antibiotik atau golongan antibiotik di luar yang telah resisten.
- Perlu dilakukan sosialisasi kepada peternak untuk dapat memperbaiki praktik penggunaan antibiotik di peternakan ayam broiler.
- Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pola resistensi *E. coli* pada saluran pencernaan unggas dianggap perlu untuk mengetahui hubungan kejadian resistensi di lingkungan dan di dalam tubuh unggas.

## KETERBATASAN

Keterbatasan pada penelitian ini terletak pada faktor kondisi sekam, pola pemberian obat, pola biosekuriti dari tiap peternak yang dapat mempengaruhi kondisi resistensi antibiotik pada lingkungan kandang. Penggunaan metode *cross sectional* hanya mengukur satu titik keadaan pada saat observasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian (BPPSDMP) Kementerian Pertanian RI dan FAO Emergency Centre for Transboundary Animal Diseases (ECTAD) Indonesia yang telah memberikan dukungan dana penelitian. Kami juga mengucapkan terima kasih kepada Kepala Dinas Peternakan Kabupaten Subang, Kepala Balai Veteriner Subang dan Kepala Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan Bogor beserta staf atas bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdi-Hachesoo B, Asasi K, Sharifiyazdi H. 2017. Farm-level evaluation of Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from broiler chickens during a rearing period. *Comp Clin Pathol*. 26:471-476.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals*. Ed ke-3. CLSI suplemen VET01S. Wayne (US). CLSI Institute.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100*. Ed ke-28. CLSI suplemen M100. Wayne (US). CLSI Institute.

- Colobatiu L, Oniga O, Tabaran A, Mihaiu R, Mirel S, Daniel SD, Mihaiu M. 2014. An analysis of *Escherichia coli* isolations for antimicrobial resistance genes. *J Food Saf.* 34:233-238
- Daniel WW, Cross CL. 2014. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. Ed ke-10. Singapore (SG): John Wiley and Sons.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2018. Antimicrobial Resistance in the Environment. [Internet]. [diunduh 2018 Sept 8]. Tersedia pada: <http://www.fao.org/3/BU656en/bu656en.pdf>
- Furtula V, Farrell VG, Diarrassouba F, Rempel H, Pritchard J, Diarra MS. 2010. Veterinary pharmaceuticals and antibiotik resistance of *Escherichia coli* isolates in poultry litter from commercial farms and controlled feeding trials. *Poultry Sci.* 89(1):180-188.
- [EFSA] European Food Safety Authority. 2012. Technical specifications on the harmonised monitoring and reporting of antimicrobial resistance in *Salmonella*, *Campylobacter* and indicator *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. bacteria transmitted through food. *JEFSA.* 10(6):2742-2806.
- Hu YS, Shin S, Park YH, Park KT. 2017. Prevalence and mechanism of Fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* isolated from swine feces in Korea. *J Food Prot.* 80(7):1145-1151.
- Jiang HX, Lü DH, Chen ZL, WangXM, Chen JR, Liu YH, Liao XP, Liu JH, Zeng ZL. 2011. High prevalence and widespread distribution of multi-resistant *Escherichia coli* isolates in pigs and poultry in China. *Vet J.* 187(1):99-103.
- Marshall BM, Levy SB. 2011. Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Clin Microbiol Rev.* 24(4):718-733.
- Mueller-Doblies D, Sayers AR, Carrique-Mas JJ, Davies RH. 2009. Comparison of sampling methods to detect *Salmonella* infection of turkey flocks. *J Appl Microbiol.* 107:635-645.
- Muhammad A, Hassan SMR, Saidul A, Momena S. 2009. Antibiotik resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry and poultry environment of Bangladesh. *Am J Environ Sci.* 11(10):19-23.
- Noor SM, Poeloengan M. 2004. Pemakaian antibiotik pada ternak dan dampaknya pada kesehatan manusia. Di dalam: *Lokakarya nasional keamanan pangan produk peternakan*. Bogor (ID): Balai Penelitian Veteriner

- Spellberg B, Bartlett JG, Gilbert DN. 2013. The future of antibiotics and resistance. *N Engl J Med.* 368(4):299-302.
- Wegener HC. 2012. Antibiotik Resistance-Linking Human and Animal Health. Di dalam: Choffnes ER, Relman DA, Olsen L, Hutton R, Mack A., editor. *Institute of Medicine. Improving Food Safety Through a One Health Approach.* Washington (US): National Academies Pr. hlm 331-348.
- Woolhouse M, Ward M, van Bunnik B, Farrar J. 2015 Antimicrobial resistance in humans, livestock, and the wider environment. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 370:1-7.
- Zaman S, Hussain M, Nye R, Mehta V, Mamun KT, Hossain N. 2017 A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus* 9(6): 1-9.