

IDENTIFIKASI DAN UJI RESISTENSI ANTIMIKROBA TERHADAP *ESCHERICHIA COLI* DARI SUSU SEGAR DI PETERNAKAN SAPI PERAH TAHUN 2016

Drh. Tine Agustina¹, Drh. Nurhayati¹, Drh. Betty Indah Purnama, MPH²

¹ UPTD Balai Laboratorium Kesehatan Dan Klinik Hewan

² Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Provinsi Sumatera Barat

Email : tine.bunda@gmail.com

ABSTRAK

Escherichia coli merupakan salah satu foodborne bakteri yang telah banyak terbukti mengalami resisten terhadap antimikroba. Susu sapi segar adalah produk peternakan yang berpotensi menjadi pembawa *E. Coli*. Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi *E. Coli* dari susu sapi segar dan menguji resistensi nya terhadap antimikroba. Sampel susu sapi segar diambil dari 5 kelompok ternak sapi perah, frekuensi pengambilan 2 (dua) kali pada masing-masing kelompok dengan rentang waktu antara 2 – 4 minggu. Isolasi dan identifikasi *E. Coli* dari sampel dilakukan dengan menggunakan metode Standar Nasional Indonesia (SNI) nomor 2897:2008, metode pengujian cecaran mikroba pada susu, daging dan telur. Total *E. Coli* yang berhasil diidentifikasi sebanyak 85 isolat. Bakteri disimpan dalam bentuk isolat pada media Nutrient Agar Miring, untuk dilakukan pengujian resistensi terhadap antimikroba Ciprofloxacin®, Ampicillin®, Ceftriaxone®, Nalidixic Acid®, Sulfamethoxazole® dan Chloramphenicol® dengan metode Kirby Bauer Disk Diffusion Test. Hasil pengujian sebanyak 85 isolat (100%) *E. Coli* sensitif terhadap antibiotika Ciprofloxacin®, Ceftriaxone®, Nalidixic Acid®, Sulfamethoxazole® dan Chloramphenicol® ditunjukkan dengan adanya zona hambatan, dengan derajat kepekaan yang berbeda tergantung besarnya zona hambatan. Sedangkan sebanyak 20 isolat (14%) resisten terhadap antibiotik Ampicillin®, ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambatan yang terbentuk di sekitar disc Ampicillin®. Dan disimpulkan bahwa *E. Coli* yang berhasil diisolasi dari susu sapi segar di peternakan sapi perah di wilayah Provinsi Sumatera Barat telah resisten terhadap antimikroba Ampicillin. Kata Kunci : *Escherichia coli*, susu sapi segar, food borne bakteri, resistensi antimikroba

PENDAHULUAN

Escherichia coli termasuk dalam famili enterobacteriaceae, genus *Escherichia*, bersifat aerob berbentuk batang, biasanya mempunyai flagela untuk alat gerak dan termasuk kelompok gram negatif (Cowan, 1984). Sebagian besar *E. Coli* yang ada di saluran pencernaan manusia dan hewan merupakan flora normal, namun ada yang patogen sehingga dapat menyebabkan diare pada manusia dan hewan (Bettelheim, 2000).

Susu adalah zat cair berwarna putih dari sapi betina atau hewan menyusui lainnya yang dapat diminum atau digunakan sebagai bahan makanan sehat, tidak dikurangi komponennya dan tidak ditambah dengan bahan-bahan lainnya (Hadiwiyoto, 1994). Susu yang merupakan makanan bergizi bagi manusia juga menjadi media yang baik bagi pertumbuhan banyak mikroorganisme, terutama spesies *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Bacillus* serta *Escherichia coli* (Volk dan Wheeler, 1993). Menurut Setyawan dan Yatri, 1987, bakteri *E. coli* sering ditemukan di dalam susu. Bakteri berasal dari kontaminasi petugas pemerah susu yang tidak membersihkan tangannya sebelum mulai pemerah susu (memegang ambing), kebersihan kandang sapi yang kurang, tempat

pembuangan kotoran yang dekat dengan kandang dan juga jarak kandang sapi yang dekat dengan sumur. Oleh karena itu *E. coli* dipilih untuk diuji dalam penelitian kali ini, karena sering ditemukan didalam susu.

Antibiotik yang biasa diberikan pada sapi di antaranya yaitu oxytetrasiklin, ampicilin, penisilin (golongan antibiotik penisilin); penstrep (kombinasi golongan penisilin dan sefalosporin) dan antibiotik golongan sulfadiazin. Antibiotik tersebut diberikan secara langsung dengan disuntikkan pada sapi langsung, tidak dicampur pakan (jerami, dedak, konsentrat, ampas tahu, rerumputan) yang diberikan pada sapi. Meluasnya pemakaian antibiotika di peternakan dan manusia saat ini berdampak negatif timbulnya resistensi antibiotika. Prevalensi resistensi antibiotik pada bakteri yang ada dalam susu dan produk susu sudah umum terjadi, seperti dilaporkan oleh Farzana,et.al 2009 dan Sharma,et.al 2012.

Penggunaan antibiotika di Indonesia yang cukup dominan adalah turunan tetrasiklin, penisilin, kloramfenikol, eritromisin dan streptomisin. Seperti juga di negara lain, pola penggunaan antibiotika tersebut telah mencapai tingkat yang berlebihan dan banyak diantaranya digunakan secara tidak tepat. Perkembangan resistensi kuman terhadap antibiotika sangat dipengaruhi oleh intensitas pemaparan antibiotika di suatu wilayah, tidak terkendalinya penggunaan antibiotika cenderung akan meningkatkan resistensi kuman yang semula sensitif (Refdanita dkk, 2001).

Adanya bakteri resisten terhadap antibiotika mendorong dilakukannya penelitian untuk mengkaji resistensi bakteri dari susu sapi segar. mengingat susu sapi segar sering dikonsumsi manusia dan merupakan bahan makanan yang sangat penting untuk kebutuhan manusia.

TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah :

1. Isolasi dan Identifikasi *E. Coli* dari susu sapi segar
2. Mengetahui status resistensi antibiotika terhadap *E. coli* yang diisolasi dari susu segar sapi perah di 5 daerah Kab/Kota di Provinsi Sumatera Barat

MATERI DAN METODE

Kepada sebanyak 110 sampel susu sapi segar yang diperoleh di beberapa unit usaha sapi perah di 5 Kab/Kota di wilayah Provinsi Sumatera Barat, dilakukan isolasi dan identifikasi adanya bakteri *Escherichia coli*. Pada setiap unit usaha, sampel diambil sebanyak dua kali, untuk monitoring sebelum dan sesudah pembinaan hygiene sanitasi. Metode isolasi dan identifikasi sesuai SNI 2897:2008 dan dikerjakan di Laboratorium Kesmavet UPTD BLKKH selama tahun 2016. Sebanyak 25 ml sampel susu pada tahap prapengayaan diinkubasi pada suhu 35°C pada media Lauryl Sulfate Broth (LSB) selama 48 jam, tabung

yang diduga mengandung *E.coli* akan diperkaya dalam media Eschericia Coli Broth (ECB) yang diinkubasi selama 48 jam. Pada tabung yang diduga ada *E. coli* dilanjutkan identifikasi pada media Levine Eosine Methylene Blue Agar (LEMB-A), untuk kemudian disimpan dalam bentuk isolat dan diuji biokimia dan gula-gula. Bakteri *E. coli* yang dinyatakan positif berdasarkan uji biokimia dan gula-gula, untuk selanjutnya disimpan dalam bentuk biakan media Nutrient Agar (NA) miring. Kepada sebanyak 85 isolat *E.coli* yang berhasil diidentifikasi dari susu sapi segar, dilakukan uji lanjut resistensi terhadap 6 macam antibiotika yaitu nalidixic acid, sulfamethoxazole-thrimethoprim, ampicillin, Ciprofloxacin, Ceftriaxone dan Chloramphenicol. Metode yang digunakan untuk uji resistensi adalah metode Kirby Bauer Disk Diffusion Test. Dengan metode ini, isolat bakteri diencerkan sehingga mendapatkan standar kekeruhan $\frac{1}{2}$ McFarland. Untuk kemudian dibiakkan pada media Mueller Hinton Agar (MHA), dan ditempelkan disk yang telah mengandung antibiotika. Inkubasi dilakukan pada suhu 36°C selama 24 jam, untuk kemudian diamati zona hambatan yang terbentuk.

HASIL

Isolasi dan Identifikasi *E.coli*

Tabel 1. Hasil identifikasi *E. Coli* pada 110 sampel susu sapi segar

No	Kelompok Asal Sampel	Jumlah sampel	Jumlah sampel (+) <i>E. coli</i>	Jumlah isolat <i>E. Coli</i>
1	Talago Sakato (Kab. Padang Pariaman)			
	- Pengambilan I	10	1	2
	- Pengambilan II	10	6	11
2	Kelompok Rumah susu (Kota Padang Panjang)			
	- Pengambilan I	12	6	23
	- Pengambilan II	12	2	4
3	Kelompok Permata Ibu (Kota Padang Panjang)			
	- Pengambilan I	13	11	0
	- Pengambilan II	13	12	15
4	Kelompok Tapian Agam (Kota Payakumbuh)			
	- Pengambilan I	10	3	6
	- Pengambilan II	10	5	7
5	Kelompok Sago Pratama (Kab. 50 Kota)			
	- Pengambilan I	10	6	15
	- Pengambilan II	10	2	2
Total		110	54	85

Dari 110 sampel yang dilakukan pengujian adanya cemaran mikroba, ditemukan sebanyak 85 isolat *E. Coli* dan 49 % susu segar terkontaminasi bakteri *E.coli*.

Pengujian Resistensi Antimikrobal (AMR)

Tabel. 2 Hasil Pengujian AMR terhadap 85 isolat bakteri *E.coli*

No	Asal Sampel	Jumlah Isolat	Antibiotika	Resisten	Sensitif
1	Talago Sakato (Kab. Padang Pariaman)	13	Ciprofloxacin	0	13
			Ampicillin	4	9
			Ceftriaxone	0	13
			Nalidixic Acid	0	13
			Sulfamethoxazole-Thrimethoprim	0	13
			Chloramphenicol	0	13
2	Kelompok Rumah susu (Kota Padang Panjang)	27	Ciprofloxacin	0	27
			Ampicillin	4	23
			Ceftriaxone	0	27
			Nalidixic Acid	0	27
			Sulfamethoxazole-Thrimethoprim	0	27
			Chloramphenicol	0	27
3	Kelompok Permata Ibu (Kota Padang Panjang)	15	Ciprofloxacin	0	15
			Ampicillin	2	13
			Ceftriaxone	0	15
			Nalidixic Acid	0	15
			Sulfamethoxazole-Thrimethoprim	0	15
			Chloramphenicol	0	15
4	Kelompok Tapian Agam (Kota Payakumbuh)	13	Ciprofloxacin	0	13
			Ampicillin	6	7
			Ceftriaxone	0	13
			Nalidixic Acid	0	13
			Sulfamethoxazole-Thrimethoprim	0	13
			Chloramphenicol	0	13
5	Kelompok Sago Pratama (Kab. 50 Kota)	17	Ciprofloxacin	0	17
			Ampicillin	4	13
			Ceftriaxone	0	17
			Nalidixic Acid	0	17
			Sulfamethoxazole-Thrimethoprim	0	17
			Chloramphenicol	0	17

Dari total 85 sampel isolat *E. coli* yang diuji, sebanyak 20 isolat menunjukkan resistensi terhadap antibiotika Ampicillin, sebanyak 86% lainnya masih sensitif terhadap antibiotika Nalidixic acid, Chloramphenicol, Ceftriaxone, Ciprofloxacin dan Sulfadiazine-trimethoprim. Dari sejumlah 20 isolat *E.coli*

yang resisten, pada pengujian tidak ditemukan adanya zona hambatan sama sekali (zona = 0). Sedangkan zona hambatan pada antibiotika lain bervariasi antara 15 mm – 36 mm.

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil tabel 1 diatas, sebanyak 54 sampel susu (49 %) terkontaminasi bakteri *E.coli*, hal ini sesuai dengan penelitian dari Sartika et.al., 2013 bahwa sebanyak 14 sampel dari 19 sampel susu segar (73,7 %) terkontaminasi bakteri *E.coli*. Gundogan et al, 2014 juga melaporkan adanya kontaminasi *E.coli* pada susu segar sebesar 74 %, lebih tinggi dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus* yang hanya 56 %. Seperti juga telah diteliti oleh Yusuf, Akhmad., 2011 bahwa sampel susu segar dari 3 kelompok ternak sapi perah, semuanya terkontaminasi bakteri *E.coli*. Menurut Setyawan dan Yatri, 1987, bakteri *E.coli* sering ditemukan di dalam susu. Hal ini kemungkinan berasal dari kontaminasi petugas pemerah susu yang tidak membersihkan tangannya sebelum mulai pemerah susu, kebersihan kandang sapi, tempat pembuangan kotoran yang dekat dengan kandang dan juga jarak kandang sapi yang dekat dengan sumur.

Berdasarkan tabel 2 diatas, bakteri *E. coli* yang diisolasi dari susu sapi segar dari beberapa peternakan sapi perah menunjukkan resistensi terhadap antibiotika ampicillin (AMP® 10mcg). Hal ini sesuai dengan penelitian dari Mas'ad, 2017 bahwa sebanyak 100 % bakteri *E.coli* yang diisolasi dari susu sapi segar di wilayah kota Surabaya, menunjukkan resistensi terhadap Ampicillin. Di Turki, Gundogan, et.al., 2014 juga melaporkan kejadian resistensi *E.coli* pada susu sapi segar terhadap Ampicillin.

Sedangkan untuk antibiotika lainnya yang digunakan pada penelitian kali ini menunjukkan bahwa *E.coli* masih peka terhadap Ceftriaxone, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Nalidixic acid dan Sulfamethoxazole-Thrimethoprim. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Widodo, et.al; 2011, bahwa bakteri *E.coli* masih peka terhadap antibiotika Ciprofloxacin, Nalidixic acid dan Sulfamethoxazole-Thrimethoprim. Hasil ini juga diperkuat oleh Muslimin, Lucia et.al; 2015, dimana menunjukkan *E.coli* yang diisolasi dari susu segar di daerah Sinjai Sulawesi Selatan masih peka terhadap antibiotika Ceftriaxone (dengan skala Intermediate) dan Chloramphenicol (dengan skala Susceptible). Namun menurut Muslimin, Lucia et.al; 2015; *E.coli* yang berhasil diolasi dari Sinjai telah mengalami resisten terhadap Ciprofloxacin, Nalidixic acid dan Sulfamethoxazole-Thrimethoprim, hal ini berbeda dengan hasil yang kita temukan di Sumatera Barat.

Kejadian resistensi bakteri *E.coli* dari susu sapi segar terhadap antibiotika Ampicillin salah satunya diduga karena pemakaian antibiotika Ampicillin atau golongan Penicillin yang tidak rasional dan penggunaan jangka panjang baik

pada hewan maupun manusia. Bakteri *E.coli* yang ditemukan pada produk susu segar merupakan bakteri cemaran, baik dari lingkungan, manusia maupun dari ternak sapi. Penelitian yang telah dilakukan oleh Jones et al. 1982; Mechie et al. 1997; Vaessen et al. 1998; Garber et al. 1999; Kabagambe et al. 2000 menunjukkan beberapa faktor yang mempengaruhi penyebaran *E.coli* adalah faktor manajemen (manajemen pemerahan, tipe pakan, kandang dll), Bakteri *E.coli* merupakan flora normal dalam usus, sehingga adanya *E.coli* pada produk susu sapi menunjukkan manajemen pemeliharaan dan pemerahan yang tidak bagus (Fitzgerald, et. al; 2003).

Resistensi *E.coli* terhadap antibiotika menjadi sangat penting, mengingat *E.coli* merupakan bakteri gram negatif yang paling sering menyebabkan infeksi saluran kemih, diare dan bakteremia lainnya. Dan karena *E.coli* yang resisten mempunyai kemampuan mentransfer gen resisten tidak hanya kepada bakteri *E.coli* strain lain tapi juga pada bakteri lainnya yang ada di saluran pencernaan dan bisa menerima gen resistensi dari organisme lainnya (Sawant,et.al 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, bakteri *E.coli* yang berhasil diisolasi dari susu sapi perah di 5 wilayah Kab/Kota Sumatera Barat, sebanyak 14% mengalami resistensi terhadap antibiotika Ampicillin. Dan sebanyak 100 % peka terhadap antibiotika Ceftriaxone, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Nalidixic acid dan Sulfamethoxazole-Thrimethoprim.

SARAN

Keberadaan *E.coli* pada susu sapi segar ini merupakan kontaminasi dari lingkungan, hewan dan manusia, dimana ditemukan telah mengalami resisten terhadap Ampicillin. Oleh karena itu disarankan supaya mengkonsumsi susu yang sudah dipasteurisasi. Selain itu kepada petugas kesehatan hewan dan peternak sapi perah untuk selalu menerapkan Good Farming Practices dan Good Veterinary Practices, sehingga kejadian kontaminasi bakteri *E.coli* bisa diminimalkan.

DAFTAR PUSAKA

- Bettelheim, K.A. 2000. Role of Non O157 VTEC. **Journal. Applied Symp. Microbiol.** Suppl.8:3-50.
- Cowan, S.T. 1984. **Manual for the Identification of Medical Bacteria.** 2nd ed. Cambridge University Press, USA.
- Farzana, K., Akhtar, S.. and Jabeen, F. 2009. Prevalence and antibiotic resistance of bacteria in two ethnic milk based products. **Pak J Bot**, 41 (2): 935-943.

- Gundogan, N. And Avcı, E. 2014. Occurrence and Antibiotic Resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in raw milk and dairy product in Turkey. **International Journal of Dairy Technology**. Vol. 67, Issue 4; 562-269.
- Joshua, L.T. dan Drastini, Y. 2015. Identifikasi *Escherichia coli* O157:H7 Pada Susu Sapi Perah Dan Lingkungan Peternakan. **Jurnal Kedokteran Hewan**. Vol 9. No. 2: 174-177.
- Mas'ad, K. 2017. Profile Resistance of Bacteria *Escherichia coli* Isolated From Raw Milk On Farms Dairy Cattle In Surabaya To Antibiotics. <http://repository.unair.ac.id/id/eprint/61092>.
- Muslimin, L.R.W., Naini, F., Himawan, R., 2015. Pola Sensitivitas antibiotika terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang diisolasi dari susu sapi segar. **Jurnal Veteriner**, Vol. 16. No. 4 : 520-524.
- Sartika, R.A.D., Indrawani, Y.M., Sudiarti, T. 2005. Analisis Mikrobiologi *Escherichia coli* O157:H7 Pada Hasil Olahan Hewan Sapi Dalam Proses Produksinya. **Makara, Kesehatan**, Vol. 9, No 1. Juni 2005: 23-28.
- Sawant, A.A., et.al. 2007. Antimicrobial-Resistant Enteric Bacteria from Dairy Cattle. **Applied and Enviromental Microbiology**, Jan. 2007. P. 156-163.
- Sharma, D. And Malik, A. 2012. Incidence and prevalence of antimicrobial resistant *Vibrio cholerae* from dairy farms. *African Journal of Microbiology Research*, 6 (25): 5331-5334.
- Widodo, et.al. 2011. Uji Kepekaan Antibiotika Verotoksigenik E.Coli (VTEC) Yang Diisolasi Dari Beberapa Peternakan Sapi Perah Di Jawa Barat. **Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner**.