

UJI SUSCEPTIBILITY ISOLAT KLINIS *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* YANG DIISOLASI DARI AYAM PROGRAM BEKERJA BBVET WATES TAHUN 2018 TERHADAP ANTIBIOTIK TYLOSIN

Tri Widayati¹, Maryono², Woro Subekti³

¹Laboratorium Kesmavet Balai Besar Veteriner Wates

^{2,3}Laboratorium Bakteriologi Balai Besar Veteriner Wates

Koresponden penulis pertama: widayatitri3@gmail.com

ABSTRAK

Mycoplasma gallisepticum merupakan kelas molliculate yang dimasukkan dalam kelompok bakteri meskipun tidak memiliki dinding sel sebagaimana ciri khas bakteri. Mikroorganisme ini bersifat patogen penyebab *Cronic Respiratory Disease* (CRD) pada unggas dan menimbulkan kerugian cukup tinggi, tylosin merupakan antibiotik golongan makrolide yang banyak digunakan untuk mengatasi Mycoplasmosis pada unggas. Penggunaan antibiotik dalam waktu yang lama dengan dosis yang tidak tepat meningkatkan potensi terjadinya resistensi sehingga penggunaannya tidak efektif. Untuk mengukur efektifitas antibiotik dilakukan uji *susceptibility* dengan mengukur *minimum inhibitory concentration* (MIC). Tujuan kegiatan ini adalah mengetahui MIC antibiotik tylosin terhadap isolate *Mycoplasma gallisepticum* penyebab CRD pada ayam Joper program BEKERJA BBVet Wates 2018. Uji *susceptibility* menggunakan metode microbroth dilution. Media yang digunakan adalah mycoplasma broth dan mycoplasma agar ditambah suplemen serta indikator warna. Isolat *Mycoplasma gallisepticum* diisolasi dari swab nasoparing ayam petelur jenis Jawasuper (Joper) yang disebar pada RTM di Kabupaten Banyumas dan Purbalingga dalam rangka program Bedah Kemiskinan Rakyat Sejahtera. Sampel diambil dari ayam yang menunjukkan gejala klinis sindrom pernafasan. Dari 250 sampel swab nasopharyng diperoleh 74 isolat *Mycoplasma sp.* Selanjutnya dipilih 11 isolat *Mycoplasma gallisepticum* yang memfermentasi glukosa untuk dilakukan uji *susceptibility* terhadap antibiotik tylosin. Hasil uji *susceptibility* yang diperoleh menunjukkan MIC sebesar 0.125 µg/mL, s.d 0.25 µg/mL. Menurut penelitian sebelumnya *Mycoplasma gallisepticum* dikatakan resisten terhadap tylosin apabila MIC sama atau lebih besar dari 2.5 µg/mL Sehingga disimpulkan bahwa 11 isolat *Mycoplasma gallisepticum* yang di uji Antimikrobal *Susceptibility* masih peka terhadap antibiotik tylosin.

Kata Kunci : Uji *Susceptibility*, Mycoplasma, Antibiotik, Tylosin, MIC, Ayam Joper

PENDAHULUAN

Mycoplasma gallisepticum adalah molliculate berukuran kecil dengan informasi genetik minimal dan tidak mempunyai dinding sel (Levisohn *et al.*, 2000). *Mycoplasma gallisepticum* merupakan penyebab *chronic respiratory disease* (CRD) dengan masa inkubasi 7-21 hari, kematian tinggi terjadi apabila disertai dengan infeksi sekunder misalnya oleh *E. coli* (Layla, 1997). Menurut Levisohn *et al.* (2000) CRD menimbulkan kerugian ekonomi yang signifikan pada industri perunggasan di seluruh dunia. Penggunaan antimicrobial merupakan salah satu cara yang dianggap efektif untuk mengatasi CRD. Akan tetapi penggunaan yang tidak tepat merupakan pemicu terjadinya resistensi. Mikoplasma rentan terhadap agen antimikroba yang memengaruhi DNA, RNA, sintesis protein, atau integritas membran sel. Mikoplasma tidak rentan terhadap agen yang mengganggu sintesis asam folat atau yang bekerja pada dinding sel.

Antibiotik golongan makrolide merupakan antibiotik yang sering digunakan untuk mengatasi mycoplasmosis. Mekanisme kerja makrolide adalah menghambat proses sintesis protein yang berperan dalam proses perkembangbiakan bakteri sehingga bakteri berhenti menggandakan sel. Tylosin adalah salah satu antibiotik golongan makrolida yang sering digunakan untuk pengobatan pada mycoplasmosis (Gerchmand *et.al.*,2011).

Microorgnism inhibition concentration (MIC) adalah konsentrasi terendah dari antimicrobial yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Ribuan data MIC dapat digunakan sebagai dasar menentukan *Clinical Break Point* (CBP) suatu antimikrobia terhadap isolate tertentu dan berfungsi untuk mengevaluasi efektifitas suatu antimikrobia atau sebagai dasar pemilihan antimikrobia yang tepat (EUCAST,2018)

TUJUAN

Tujuan pengujian ini adalah mengetahui profil MIC isolate *M gallysepticum* terhadap antibiotik tylosin sehingga diketahui efektifitasnya.

MATERI DAN METODE

Uji susceptibility ini menggunakan isolat *Mycoplasma gallisepticum* yang berasal dari ayam joper program BEKERJA tahun 2018 dengan gejala klinis syndrome pernafasan. Sampel berupa swab nasopharing selanjutnya dilakukan isolasi *Mycoplasma* menggunakan media khusus mycoplasma. Dari 250 sampel diperoleh 74 isolat *Mycoplasma*, sebelas isolate yang memfermentasi laktosa dilakukan uji AST dengan metode *microbroth dilution*. Persiapan isolate, isolat pada media mycoplasma agar dicloning dan di tanam dalam mycoplasma broth, incubasi dalam kondisi anaerob pada suhu 37 selama 2-5 hari (Saadh *et.al.*,2016). Isolate tersebut selanjutnya diencerkan sampai dengan 10^{-6} . Konsentrasi isolate yang dipakai adalah 10^{-4} CCU. Persiapan antibiotik, standar antibiotik Kanamisin ditimbang dan dilarutkan dengan pelarut dapar 3 sehingga diperoleh konsentrasi standar baku 1000 ppm. Selanjutnya dibuat pengenceran standar kerja dengan konsentrasi 64 ppm. Pengujian AST metode microbroth dilution. Siapkan mikroplate steril, untuk kolom 1 diisi 100 μ l standar antibiotik. Baris selanjutnya diisi 50 μ l media. Ambil 50 μ l antibiotik dari kolom 1 transfer ke kolom 2, kemudian ambil dari kolom 2 transfer ke kolom 3 dan seterusnya kecuali kolom terakhir (Hannan, 2000).

HASIL DAN PEMBAHASAN

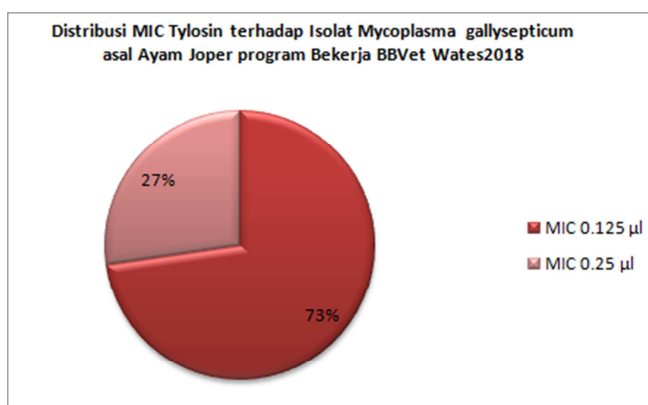
Hasil pengujian susceptibility isolate *Mycoplasma gallysepticum* terhadap preparat tylosin diamati dalam kurun waktu 4 – 14 hari. Rata-rata sudah terlihat pertumbuhan isolate pada hari ke-5. Pertumbuhan isolat ditandai dengan terjadinya perubahan warna media menjadi orange atau kuning. Menurut Kibeida *et.al* (2010) *M gallysepticum* memfermentasi lactose ditandai dengan perubahan warna media merah menjadi orange atau kuning. Pada pengujian

ini 8 isolat terjadi pertumbuhan pada konsentrasi 0.015 s.d 0.125 dan 3 isolat terjadi pertumbuhan pada konsentrasi 0.015 s.d 0.625. Data MIC isolate *M gallisepticum* selengkapnya disajikan dalam tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji susceptibility isolat *Mycoplasma gallisepticum* terhadap preparat Tylosin

No	Isolat (kode)	Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
1	1	0.125
2	2	0.125
3	3	0.25
4	5	0.25
5	6	0.25
6	8	0.25
7	12	0.25
8	13	0.25
9	15	0.25
10	17	0.125
11	35	0.25

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa 72.72% (8/11) isolate mempunyai MIC terhadap Tylosin sebesar 0.25 µg/ml sedangkan 27.27% (3/11) sebesar 0.125 µg/ml sedangkan gambar 1 adalah distribusi MIC tylosin terhadap isolate *M gallisepticum* asal ayam program BEKERJA Kabupaten Banyumas dan Purbalingga tahun 2018. Hasil ini sejalan dengan penelitian Landman *et.al.*(2008) yang menyatakan 17 isolate Mycoplasma yang teliti *susceptible* terhadap doxycycline, tylosin, dan tilmicosin. Sedangkan Gerchman *et.al* (2011) menemukan bahwa isolate *Mycoplasma gallisepticum* dengan MIC terhadap tylosin sebesar $\geq 0.63\mu\text{g/ml}$ terdapat atau dijumpai salah satu dari gen mutasi.



Gambar 1. Distribusi MIC Tylosin terhadap isolate *M gallisepticum*

Menurut Behbahan *et.al* (2008).*Mycoplasma gallisepticum* dikatakan resisten terhadap tylosin apabila konsentrasi MIC ≤ 2.5 µg/ml, sehingga isolat *M.gallisepticum* yang diisolasi dari saluran pernafasan ayam program bekerja

belum resisten terhadap tylosin, dengan kata lain antibiotik tylosin masih efektif digunakan untuk pengobatan Mycoplasmosis pada ayam program BEKERJA. Hasil ini sejalan dengan penelitian Landman *et.al.*(2008) yang menyatakan 17 isolate Mycoplasma yang teliti *susceptible* terhadap doxycycline, tylosin, dan tilmicosin. Sedangkan Gerchman *et.al* (2011) menemukan bahwa isolate *Mycoplasma gallisepticum* dengan MIC terhadap tylosin sebesar $\geq 0.63\mu\text{g/ml}$ mempunyai salah satu dari gen mutasi. Cara pengobatan dengan dosis dan waktu yang tepat akan mengurangi resiko terjadinya resistensi. Menurut Landman *et.al* (2008) pengobatan lebih awal sebelum terjadinya infeksi sekunder akan meningkatkan keberhasilan pengobatan. Perlu diketahui bahwa paket bantuan ayam bekerja disertai antibiotik eritromisin. Eritromisin maupun kanamisin adalah antibiotik golongan makrolide. Mekanisme kerja antibiotik makrolide adalah menghambat sintesa protein dengan mengikat component 23S r RNA pada sub unit 50S ribosom (Gerchmand *et.al.*,2011). Berdasarkan data kuisioner antibiotik tersebut telah digunakan, namun demikian tidak diketahui kesesuaian cara pengobatan yang dilakukan dengan aturan penggunaan. Menurut Gerchmand *et.al* (2011) resistensi dapat dipicu oleh penggunaan antibiotik dalam dosis yang rendah secara terus-menerus dan cara pemberian yang salah.

KESIMPULAN dan SARAN

KESIMPULAN

Profil MIC Tylosin terhadap isolate klinis *Mycoplasma gallysepticum* yang berasal dari ayam joper proyek Bekerja BBVet Wates Th 2018 adalah $0.25\ \mu\text{g/ml}$ (27.27%) dan $0.125\ \mu\text{g/ml}$ (72.72%). Dari MIC tersebut antibiotik Tylosin masih efektif digunakan untuk pengobatan *M gallysepticum* pada ayam joper tersebut.

SARAN

Diberikan pengetahuan yang cukup pada peternak penerima ayam joper mengenai cara pemakaian antibiotik yang benar dan peningkatan pengujian AST terhadap *Mycoplasma gallysepticum* terhadap beberapa antibiotik sehingga diperoleh data yang lebih banyak untuk menentukan *Clinical Break Point*.

KETERBATASAN

Karakter *Mycoplasma gallysepticum* menyebabkan metode pengujian AST menjadi lebih rumit dan memerlukan waktu yang cukup lama.

DAFTAR PUSTAKA

- Behbahan N.G.G., K. Asasi, A.R Afsharifa et.al. 2008. Susceptibilities of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* Isolates to Antimicrobial Agents In Vitro. *International Journal of Poultry Science* 7(11):1058-1064.
- EUCAST.2018. Implications of Breakpoint Splitting the Wildtype and/or Resisten Population. <http://mic.eucast.org/eucast2/>
- Gerchman I., S. Levisohn. I. Mikula, et.al. 2011. Characterization of invivo-acquired Resistance to Macrolide of *Mycoplasma gallisepticum* Strains Isolated from Poultry. http://www.veterinary_research.org/conten/42/1/90.
- Hannan P.C.T.2000. Guidelines and Recommendation for Antimicrobial Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Testing Against Veterinary *Mycoplasma* Species. *Vet.Res* 31(2000) 373-395
- Landman W.J.M., D.J Mevius, K.T Veldman, A.Feberwee. 2008. Invitro Antibiotic Susceptibility of Dutch *Mycoplasma synoviae* Field Isolates Originating from Joint Lesion and The Respiratory Tract of Commercial Poultry. *Avian Pathology*.37:4,415-420
- Levisohn.S. and S.H Kleven.2000. Avian Mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). *Rev.Sci.off.Int.Epit*.19(2),425-442.
- Saadh M.J. and Ibrahim W.Hasani.2016. Isolation and Molecular Identification of *Mycoplasma gallisepticum* from Chicken Flock. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*.8(2):721-725
- VET08.2018. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated From Animals. *Clinical And Laboratory Standards Institute*. 4th Ed. June 2018