

IDENTIFIKASI *ESCHERICHIA COLI* PENGHASIL *EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE* (ESBL) PADA SAMPEL LIMBAH AIR DARI PROSES PEMOTONGAN DI TEMPAT PEMOTONGAN UNGGAS KOTA BOGOR

Kanti Puji Rahayu¹, Monika Danaparamitha Andriani¹, Ading Wahyudi¹

¹Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan, Bogor
Korespondensi : monikadana@pertanian.go.id

ABSTRAK

Extended spectrum β -lactamase (ESBL) adalah enzim yang dapat menghidrolisis berbagai jenis antibiotik β -laktam termasuk generasi ketiga sefalosporin spektrum luas dan monobaktam. Bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) diketahui telah menunjukkan resistensi terhadap beberapa antibiotik, salah satunya terhadap antibiotik golongan β -laktam. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis keberadaan dan jumlah total bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada limbah air dari tempat pemotongan hewan unggas Kota Bogor. Metode yang digunakan adalah kultur pada media Tryptone Bile X-glucuronide agar dan MacConkey Agar yang ditambahkan antibiotik cefotaxim dilanjutkan pada media Mueller Hinton Agar (MHA). Isolat *E. coli* penghasil ESBL diisolasi dari tiga bagian sungai yang mengalir di sekitar TPU yaitu bagian hulu sungai (*upstream*), area pembuangan limbah cair sisa proses produksi (*effluent*), dan bagian hilir sungai (*downstream*). Pengambilan sampel dilakukan pada saat proses pemotongan hewan. Hasil identifikasi bakteri menunjukkan terdapat perbedaan jumlah total *E. coli* dan *E. coli* penghasil ESBL pada tiap bagian sungai. Pada bagian *upstream* terdapat total *E. coli* penghasil ESBL sebanyak 4.4%, *effluent* sebanyak 38.7%, dan *downstream* sebanyak 22.2 % dari total *E. coli* yang ditemukan. Keberadaan bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada limbah cair yang mengalir ke sungai sekitar area tempat pemotongan hewan berpotensi menyebarkan gen resisten tersebut ke bakteri lain di lingkungan. Kondisi ini dapat menimbulkan risiko pada kesehatan masyarakat, sehingga diperlukan evaluasi dan pengendalian lebih lanjut.

Kata kunci: *E. coli*, ESBL, resistensi, limbah, tempat pemotongan unggas.

PENDAHULUAN

Air sungai termasuk kedalam air permukaan yang banyak digunakan oleh masyarakat. Aktivitas manusia di sepanjang daerah aliran sungai seringkali menyebabkan sungai menjadi rentan terhadap pencemaran air sehingga menyebabkan penurunan kualitas lingkungan (Soemarwoto, 2003). Di sebagian negara berkembang, sungai dijadikan tempat untuk mandi, mencuci pakaian hingga peralatan memasak sekaligus sebagai tempat pembuangan limbah manusia dan hewan. Pemanfaatan air untuk kegiatan seperti di atas berisiko untuk menimbulkan penyakit. Menurut Pandey *et al.* (2014), air yang tercemar oleh mikroorganisme patogen menjadi penyebab terbesar terjadinya penyakit manusia di seluruh dunia. Sungai Ciliwung merupakan salah satu sungai yang menjadi sumber kehidupan warga Bogor hingga Jakarta (Ulfa *et al.* 2017). Daerah aliran sungai Ciliwung melewati Kabupaten dan kota Bogor, dan mengalir sampai ke wilayah ibukota (Yanidar *et al.* 2011). Wilayah Kebon Pedes dengan kepadatan penduduk yang tinggi merupakan sentra pemotongan hewan unggas kota Bogor dimana terdapat puluhan tempat pemotongan unggas (TPU) yang setiap hari beroperasi. Limbah TPU berpotensi sebagai sumber zoonosis dan dapat menimbulkan penyakit pada manusia, salah satunya bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) penghasil ESBL.

Extended spectrum β -lactamase (ESBL) adalah enzim yang diproduksi oleh bakteri sehingga bakteri tersebut dapat menghidrolisis dan menjadi resisten terhadap jenis antibiotik β -laktam termasuk generasi ketiga sefalosporin spektrum luas dan monobaktam. Enzim tersebut banyak dihasilkan oleh bakteri golongan Enterobacteriaceae terutama *E. coli* dan *Klebsiella pneumonia*. Keberadaan bakteri ESBL telah dilaporkan terdapat pada hewan penghasil pangan terutama unggas (Overdevest *et al.* 2011). Niasono *et al.* (2019) menyatakan sebanyak lebih dari 90% *E. coli* yang diisolasi dari peternakan unggas broiler telah mengalami resistensi terhadap setidaknya tiga atau lebih antibiotik. Lebih lanjut, unggas tersebut dapat menyebarkan *E. coli* penghasil ESBL melalui feses ke lingkungan sekitar TPU (Ibrahim *et al.* 2016). Limbah dari TPU yang dialirkan ke sungai merupakan tempat penyebaran *E. coli* penghasil ESBL yang membahayakan kesehatan masyarakat disekitarnya. Oleh karena itu penting untuk mengetahui sejauh mana pencemaran sungai yang dapat berdampak bagi kesehatan masyarakat, salah satunya dengan melakukan deteksi dan enumerasi bakteri *E. coli* yang memiliki kemampuan resistensi pada antimikroba (ESBL). Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis keberadaan dan jumlah total bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada limbah air dari tempat pemotongan hewan unggas Kota Bogor

MATERI DAN METODE

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah sampel air, Tryptone Bile X-glucuronide (TBX) agar, MacConkey agar, Phosphate Buffered Saline (PBS), Nutrient Agar, Indol, Citrat, SiM, kertas cakram antibiotik, Cefotaxim 4 μ g, kontrol positif *E. coli* ATCC 25922, kontrol positif ESBL *E. coli* NCSU 10455, dan kontrol positif ESBL non *E. coli* ATCC 700603. Peralatan yang digunakan adalah Pompa Vacum Filter, Kertas Filter steril, Tabung Reaksi, dan Cawan Petri.

Metode Pengambilan Sampel

Sampel berupa air diambil dari air sungai yang mengalir di sekitar TPU Kebon Pedes Bogor pada bulan Januari 2020. Pengambilan sampel dilakukan pada tiga titik yaitu aliran air dari pembuangan limbah cair sisa proses produksi (*effluent*), sungai bagian hulu (*upstream*), dan sungai bagian hilir (*downstream*). Sampel air dari *effluent* diambil langsung dari pembuangan limbah cair sisa proses produksi TPU Kebon Pedes Bogor. Sampel air bagian hulu (*upstream*) diambil ± 10 meter sebelum pipa pembuangan limbah TPU Kebon Pedes Bogor. Kemudian sampel air dari bagian hilir (*downstream*) diambil ± 5 meter setelah pipa pembuangan limbah TPU Kebon Pedes Bogor. Pengambilan sampel air sebanyak 250 ml menggunakan wadah botol duran steril, dan dilakukan satu kali pengambilan pada setiap masing-masing titik lokasi pada waktu yang sama. Sampel air yang

diperoleh kemudian disimpan pada suhu 4-8 °C untuk selanjutnya dianalisa di laboratorium.

Metode Isolasi *Escherichia coli*

Sampel air yang diperoleh dalam kurun waktu 24 jam segera ditransportasikan ke laboratorium untuk dilakukan pengujian. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan, Direktorat Kesehatan Masyarakat Veteriner, Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian.

Sampel air yang diambil dari tiga titik di sungai sekitar TPU Kebon Pedes dimasukkan dalam botol duran dan dihomogenkan sebanyak 10 kali sebelum dilakukan pengujian. Selanjutnya diambil masing-masing 1 ml sampel air limbah dan dimasukkan kedalam Vacum pump yang sudah diisi dengan kertas filter steril, lalu dilakukan pembilasan dengan PBS. Kertas filter yang sudah mengandung bakteri yang tersaring kemudian diletakkan ke permukaan media TBX agar dan media TBX agar plus cefotaxim. Setiap tahapan dilakukan secara duplo dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Langkah tersebut dilakukan pada pengenceran selanjutnya sesuai pengenceran yang diinginkan. Selanjutnya dilakukan pemilihan dan perhitungan koloni yang berwarna hijau sesuai kontrol positif *E. coli* dan *E. coli* penghasil ESBL pada plate dengan maksimal jumlah koloni sebanyak 100 koloni. Sebanyak 10 koloni dipilih secara acak dari tiap sampel yang ditanam dari TBX agar ke MacConkey agar dan dari TBX agar plus cefotaxim ke media MacConkey agar plus Cefotaxim, inkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh dan berwarna pink sesuai kontrol *E. coli* dan kontrol ESBL *E. coli* kemudian diidentifikasi secara biokimia.

Pengujian Resistensi Antibiotik

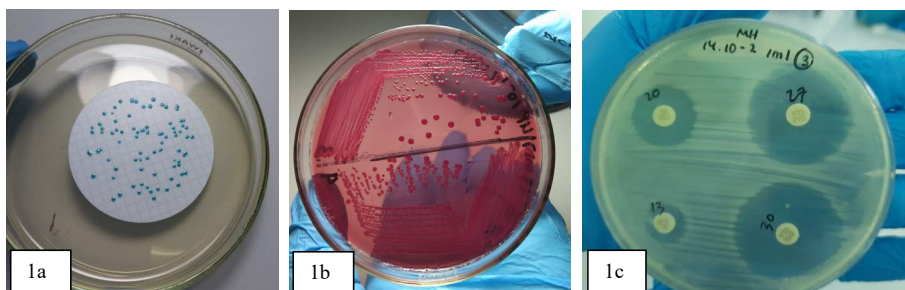
Biakan murni terduga *E. coli* penghasil ESBL disiapkan dalam suspensi dengan kekeruhan setara 0,5 Mc Farland, biakan tersebut diambil dengan menggunakan cotton swab steril dan diratakan pada media Mueller Hinton Agar (MHA) dan kertas cakram antibiotik (Cefotaxim 30 µg, Cefotaxim CLA, Ceftazidim 30 µg dan Ceftazidim CLA) diletakkan diatas MHA secara berseberangan dan diinkubasi pada suhu 35 °C ± 2 °C selama 24 jam dan hal yang sama juga dilakukan pada kontrol positif *E. coli*, kontrol positif ESBL *E. coli*, dan kontrol positif ESBL non *E. coli*.

Analisis Data

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

HASIL

Berdasarkan hasil pengujian, general *E. coli* dan *E. coli* yang diduga sebagai penghasil ESBL ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan koloni bakteri pada kertas filter yang diletakkan di permukaan media TBX agar dan TBX agar plus cefotaxim. Selanjutnya koloni-koloni dari TBX agar dan TBX agar plus Cefotaxim ditanam media MacConkey agar dan MacConkey agar plus Cefotaxim. MacConkey agar merupakan media selektif dan dapat membedakan antara bakteri enterik yang memfermentasi laktosa dan tidak memfermentasi laktosa. Untuk koloni terduga tersebut dilanjutkan dengan uji konfirmasi ESBL untuk memastikan bahwa *E. coli* yang ditemukan adalah benar *E. coli* penghasil ESBL.



Gambar 1. Koloni terduga *E. coli* penghasil ESBL pada: (1a) media TBX agar plus cefotaxim, (1b) media MacConkey agar yang mengandung cefotaxim, (1c) Media MHA dan kertas cakram antibiotik.

Baik bakteri general *E. coli* dan *E. coli* yang diduga penghasil ESBL ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan pada kertas filter yang diletakkan diatas media TBX agar dan media TBX agar plus cefotaxim, koloni berbentuk bulat dan berwarna biru seperti terlihat pada Gambar (1a). Pertumbuhan pada media MacConkey agar dan MacConkey plus Cefotaksim 4µg/ml dengan ditunjukkan dengan ciri koloni berbentuk bulat, halus, berwarna merah, dan dikelilingi zona keruh yang dapat diamati pada Gambar (1b). Setelah dilakukan pemilihan koloni murni pada media MacConkey agar plus cefotaxim, dilanjutkan uji konfirmasi ESBL menggunakan media Mueller Hinton Agar (MHA) dan kertas cakram antibiotik (Cefotaxim 30 µg, Cefotaxim CLA, Ceftazidim 30 µg dan Ceftazidim CLA) menggunakan metode difusi cakram berdasarkan panduan dari Clinical and Laboratory Standar Institute (CLSI) (CLSI, 2014). Gambar (1c) merupakan gambaran isolat *E. coli* yang positif ESBL ditandai dengan adanya zona bening disekitar kertas cakram yang berisi antibiotik pada media MHA. Munculnya zona bening menunjukkan adanya kemampuan antibiotik yang terdapat pada kertas cakram dalam menghambat pertumbuhan bakteri yang telah disebar diatas permukaan media MHA.

Isolat positif *E. coli* penghasil ESBL diperoleh di semua lokasi pengambilan sampel yaitu bagian hulu sungai (*upstream*), *effluent*, dan hilir sungai (*downstream*). Sampel *upstream* merupakan sampel yang diambil ± 10 meter sebelum pipa pembuangan limbah TPU. Sampel *effluent* merupakan sampel yang diambil pada air yang keluar dari pipa pembuangan limbah TPU. Sampel *downstream* merupakan sampel yang diambil ± 5 meter setelah pipa pembuangan limbah TPU. Adapun hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 1 berikut.

Tabel 1. Konsentrasi Bakteri *E. coli* dibandingkan dengan *E. coli* penghasil ESBL yang ditemukan di setiap lokasi pengambilan sampel.

Sampel	Konsentrasi <i>E. coli</i> (CFU/100ml)	Konsentrasi ESBL <i>E. coli</i> (CFU/100ml)	Persentase ESBL(%)
<i>Upstream</i>	20659,1	909,1	4,4
<i>Effluent</i>	128181,8	49650,3	38,7
<i>Downstream</i>	145227,3	32272,7	22,2

PEMBAHASAN

Proses resistensi terhadap antibiotik dapat terjadi secara intrinsik maupun didapat. Resistensi intrinsik terjadi secara khromosomal dan berlangsung melalui multiplikasi sel yang akan diturunkan pada turunan berikutnya. Resistensi yang didapat, dapat terjadi akibat mutasi khromosomal atau akibat transfer DNA. Penyebaran bakteri yang resisten terhadap antibiotik di lingkungan dapat berasal dari berbagai macam sumber, seperti aktivitas permukiman, kegiatan rumah sakit, peternakan, dan perikanan. Hal ini disebabkan pada bidang-bidang tersebut penggunaan antibiotik dimungkinkan tidak terkontrol. Sektor-sektor tersebut dinilai menyumbangkan pengaruh terbesar karena penggunaan antibiotik pada manusia dan hewan (unggas dan ikan) yang sakit (Rather *et al.* 2017).

Dari data hasil penelitian dapat terlihat bahwa bakteri *E. coli* penghasil ESBL sudah ditemukan di wilayah hulu sungai sebesar 4,4%. Area hulu sungai yang mengalir di aliran sungai Kebon Pedes berasal dari sungai Cipakancilan. Sungai Cipakancilan merupakan salah satu anak sungai Ciliwung, yang dalam kesehariannya banyak dimanfaatkan manusia untuk aktivitas permukiman seperti mencuci, mandi, dan pembuangan limbah manusia. Aktivitas permukiman ini menjadi salah satu penyumbang kondisi resistensi antibiotik karena berasal dari sisa buangan penduduk disekitar aliran sungai (Berendonk *et al.* 2015; Matinez, 2008).

Presentasi *E. coli* penghasil ESBL tertinggi sebesar 38,7 % berasal dari limbah cair (*effluent*) dari tempat pemotongan unggas tersebut. Hal ini dapat diketahui bahwa penggunaan antibiotik golongan β -laktam seperti golongan penicillin, cephalosporin generasi satu, dua, dan tiga serta golongan monobactam masih terus dilakukan di peternakan. Penggunaan antibiotik golongan betalaktam yang tidak bijak dapat menyebabkan resistensi terhadap seluruh golongan antibiotik tersebut.

Keberadaan *E. coli* penghasil ESBL pada *effluent* dapat disebabkan oleh cemaran dari limbah sisa produksi TPU. Masruroh *et al.* (2016) menyatakan bahwa bakteri *E. coli* penghasil ESBL ditemukan pada sampel feses ayam broiler yang dipotong di TPU Kebon Pedes Bogor. Sifat resistensi antibiotik golongan β -laktam yang muncul secara fenotipe dari penelitian ini kemungkinan besar disebabkan oleh gen penyandi ESBL. Hasil ini juga tidak jauh berbeda dengan dengan penelitian Kalanjati (2017) yang menemukan keberadaan bakteri *E. coli* penghasil ESBL pada lingkungan praproduksi di TPU Kebon Pedes Bogor. Adapun semua isolat *E. coli* penghasil ESBL yang ditemukan menunjukkan resistensi terhadap minimal sebanyak 9 jenis antibiotik (*multiple-drug resistance*). Resistensi ini akan berbahaya dan sangat merugikan manusia dan hewan jika ditularkan melalui transfer gen. Keberadaan *E. coli* penghasil ESBL pada *effluent* dalam jumlah tinggi menunjukkan bahwa limbah hasil proses produksi di TPU Kebon Pedes belum mendapatkan perlakuan dekontaminasi dan pengolahan limbah dengan baik sehingga masih dapat ditemukan pada limbah yang akan dialirkan ke sungai. Kondisi demikian menyebabkan presentase *E. coli* penghasil ESBL yang ditemukan di hilir sungai masih cukup tinggi yaitu 22,2%. Hal ini menunjukkan bahwa *E. coli* penghasil ESBL di hilir sungai mendapat kontribusi tinggi dari limbah TPU Kebon Pedes. Kondisi demikian menimbulkan risiko yang besar bagi kesehatan manusia, hewan, dan lingkungan disekitar aliran sungai dikarenakan kemampuan bakteri *E. coli* penghasil ESBL menyebarkan gen resistensi terhadap antibiotik betalaktam. Infeksi yang disebabkan oleh bakteri yang resisten terhadap antibiotik dapat meningkatkan risiko penyakit karena infeksiya menjadi lebih sulit diobati dan berpengaruh pada tingginya biaya pengobatan. Biaya pengobatan akan menjadi lebih tinggi karena masa kesakitan yang lebih lama dan masa rawat di rumah sakit menjadi lebih lama.

KESIMPULAN

Bakteri *E. coli* penghasil ESBL ditemukan di tiga lokasi yaitu daerah hulu (*upstream*), *effluent*, dan daerah hilir (*downstream*) sungai di sekitar wilayah tempat pemotongan unggas di kebon pedes dengan tingkat persentasi yang berbeda-beda. Hal ini menunjukkan bahwa sungai menjadi media yang dapat menyebarkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik golongan beta laktam. Keberadaan bakteri *E. coli* penghasil ESBL yang dapat menyebar melalui sungai dapat menjadi ancaman kesehatan masyarakat terutama masyarakat yang berada disepanjang aliran sungai Ciliwung dan menggunakan air sungai sebagai sumber kehidupan sehari-hari.

SARAN

Dari hasil penelitian ini, dapat diketahui bahwa sungai dapat menjadi media yang dapat menyebarkan bakteri yang resisten terhadap antibiotik golongan beta laktam. Oleh karena itu, perlu dilakukan perbaikan pada manajemen limbah di tempat pemotongan unggas agar tidak mencemari lingkungan sekitar. Selain itu

perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan teknik *sequencing* untuk mengetahui apakah gen bakteri yang mengalami resistensi terhadap beta laktam yang terdapat pada hulu sungai sama dengan gen resisten yang terdapat di daerah *effluent* dan hulu sungai.

KETERBATASAN

Keterbatasan pada penelitian ini terletak pada faktor kondisi cuaca dan lokasi aliran sungai yang padat penduduk yang dapat mempengaruhi aliran sungai dan kondisi arusnya.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami mengucapkan terima kasih kepada Kepala Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan Bogor beserta staf atas bantuan dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Berendonk TU, Manaia CM, Merlin C, Fatta-Kassinos D, Cytryn E, Walsh F, Burgmann H, Sorum H, Norstrom M, Pons M, Kreuzinger N, Huovinen P, Stefani S, Schwartz T, Kisand V, Baquero dan Martinez FJL. 2015. Tackling antibiotic resistance: the environmental framework. *Nature Review Microbiology* 13:310-317.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Second Informational Supplement. Wayne (US): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Ibrahim DR, Dodd CER, Stekel DJ, Ramsden SJ, Hobman JL. 2016. Multidrug Resistant, Extended Spectrum B-Lactamase (ESBL)-Producing *Escherichia coli* From A Dairy Farm. *Fems Microbiology Ecology* 92(4):1-13.
- Kalanjati WW. 2017. Keberadaan *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum B-Lactamase* di Lingkungan Sentra Pemotongan Ayam Pondok Rumput Kota Bogor [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Martinez JL. 2008. Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*. 321:365-367
- Masruroh CA. 2016. Tingkat Kejadian *Escherichia coli* Penghasil *Extended Spectrum B-Lactamase* Pada Feses Ayam Ras Pedaging di Kota Bogor. [Tesis].Bogor (ID): Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor
- Niasono A, Suandy I, Telussa R, Utomo Gb, Sukarno Ah, Setyawan E, Latif H, Purnawarman T, Gordoncillo Mjn, Isriyanthi Nmr, Ma'arif S, Schoonman L, Mcgrane J. 2019. Resistensi Antibiotik Terhadap *E. coli* yang Diisolasi dari Peternakan Ayam Broiler di Kabupaten Subang. Di Dalam: Penyidikan Penyakit Hewan Rapat Teknis dan Pertemuan Ilmiah (Ratekpil) dan Surveilans Kesehatan Hewan Tahun 2019. Jakarta (ID) : Direktorat Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian.

- Overdevest I, Willemsen I, Rijnsburger M, Eustace A, Xu L, Hawkey P, Heck M, Savelkoul P, Vandenbroucke-Grauls C, Zwaluw K, Huijsdens X, Kluytmans J. 2011. Extended-Spectrum B-Lactamase Genes Of *Escherichia Coli* In Chicken Meat and Humans, The Netherlands. *Emerging Infectious Diseases* 17(7): 1216-1222.
- Pandey PK, Kass PH, Soupir M, Biswas S, Singh VP. 2014. Contamination of Water Resources By Pathogenicbacteria. *AMB Express* 4:51.
- Rather IA, Kim BC, Bajpai VK and Park YH. 2017. Self medication and antibiotic resistance: crisis, current challenges, and prevention. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24:808-812.
- Soemarwoto, Otto. 2003. *Analisis Mengenai Dampak Lingkungan*. Yogyakarta (ID): Gajahmada University Press.
- Ulfa F, Nurhayati, Arifin HS. 2017. Kajian Sosial-Budaya Masyarakat pada Lanskap Riparian Sungai Ciliwung. *Jurnal Lanskap Indonesia* 9(1): 110-119.
- Yanidar R, Hadi S, Budiman A. 2011. *Aplikasi Qual2k dalam Pengembangan Model Kandungan Bod dan Do Pada Sungai Ciliwung Segmen 2*. *JTL* 5(6):193 – 200.