

SENSITIVITAS ISOLAT *ESCHERICHIA COLI* PATOGEN DARI SWAB KLOAKA DAN ORGAN AYAM PETELUR TERHADAP OKSITETRASIKLIN, AMPISILIN DAN KANAMISIN

Arie Khoiriyah, Ratna Ermawati

Balai Veteriner Lampung
arikhoiriyah@gmail.com

ABSTRAK

Kolibasillosis adalah penyakit infeksius pada unggas yang disebabkan oleh bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) patogen sebagai agen primer ataupun sekunder. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola kepekaan *Escherichia coli* penyebab *kolibasillosis* terhadap antibiotik Oksitetrasiklin, ampisilin dan kanamisin pada ayam petelur di desa Gadingrejo Utara, Kecamatan Gadingrejo Kabupaten Pringsewu. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolate *E. coli* patogen yang diisolasi dari swab kloaka dan organ ayam petelur sebanyak 5 sampel. Tahap pertama pada penelitian ini yaitu sampel diisolasi di media EMBA yang kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan gram dan uji biokimia dengan TSIA, TW, SCA dan MRVP. Isolat yang positif *E. coli* diuji kepekaannya terhadap antibiotik oksitetrasiklin, ampisilin dan kanamisin dengan metode Kirby-Bauer dan dianalisa secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan hasil bahwa 100% isolat *Escherichia coli* patogen asal ayam petelur resisten terhadap *ampicillin*, 60% resisten terhadap *oxytetracyclin* dan 40% resisten terhadap *kanamycin*.

Kata Kunci : *Escherichia coli* patogen, ayam petelur, oksitetrasiklin, ampisilin, kanamisin

PENDAHULUAN

Perkembangan peternakan ayam ras petelur di Indonesia sangat pesat. Pesatnya perkembangan tersebut tidak hanya didorong oleh peluang pasar yang masih terbuka tetapi juga oleh kebijakan pemerintah. Ada banyak faktor lain yang dapat menentukan keberhasilan kemajuan peternakan ayam petelur antara lain manajemen pemeliharaan, kondisi lingkungan yang mendukung, cuaca dan manajemen kesehatan. Penyakit merupakan salah satu resiko yang seringkali harus dihadapi dalam usaha peternakan ayam, Berbagai jenis penyakit sering menimbulkan gejala yang hampir serupa, sehingga untuk melakukan diagnosa diperlukan pemeriksaan-pemeriksaan lebih lanjut termasuk pemeriksaan laboratorium (Retno dkk., 1998).

Akhir-akhir ini bakteri *Escherichia coli* menjadi perhatian setelah ditemukan sejumlah kasus menyangkut *Escherichia coli* pathogen yang semakin banyak dijumpai di lapangan. Adanya infeksi pada jaringan atau organ-organ tertentu, seperti radang kantong udara (air sacculitis), enteritis, arthritis, radang mata, infeksi alat reproduksi dan radang bursa sternalis merupakan beberapa contoh infeksi yang disebabkan bakteri *Escherichia coli* pathogen. Telur tetas seringkali menjadi sasaran infeksi *Escherichia coli* dan menyebabkan kematian awal pada anak ayam (Krisnaningsih, dkk. 2005).

Berbagai usaha untuk mengatasi *kolibasilosis* telah banyak dilakukan khususnya dengan menggunakan antibiotik seperti gentamisin, kolistin, kloramfenikol, streptomisin, doksisisiklin, dan lain-lain. Pemberian antibiotika yang tidak tepat guna untuk mengatasi infeksi *E.coli* dapat menyebabkan resistensi bakteri terhadap antibiotik tersebut (Barus, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola kepekaan *Escherichia coli* penyebab *kolibasilosis* terhadap antibiotik Oksitetrasiklin, ampisilin dan kanamisin pada ayam petelur di desa Gadingrejo Utara, Kecamatan Gadingrejo Kabupaten Pringsewu.

MATERI DAN METODE

Penelitian ini menggunakan 5 isolat bakteri *Escherichia coli* dari kasus kolibasilosis pada ayam petelur di desa Gadingrejo Utara, Kecamatan Gadingrejo Kabupaten Pringsewu yang telah diuji patogenitasnya pada mencit. Media isolasi dan identifikasi adalah *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), yang kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan gram dan uji biokimia dengan TSIA, TW, SCA dan MRVP, *Brain Heart Infusion* (BHI) serta *Mueller Hinton Agar* sebagai media uji sensitivitas. Antibiotika yang digunakan Oksitetrasiklin, Ampisilin dan Kanamisin.

Uji Sensitivitas terhadap antibiotika metode *Kirby Bauer* (Atlas, 1995). Kultur bakteri yang telah dimurnikan dan diidentifikasi yang kekeruhannya telah disesuaikan dengan kekeruhan standart 0,5 Mc.Farland, kemudian diratakan ke permukaan media *Mueller Hinton Agar* dengan cara merendam lidi kapas steril selama 10 hingga 15 detik dalam suspensi bakteri, kemudian dipulaskan pada media MHA hingga merata. Didiamkan beberapa saat agar usapan kultur bakteri benar-benar meresap pada media. Disc antibiotik ditempelkan pada permukaan media, beri jarak antara disc satu dengan yang lain. Inkubasikan selama 18 sampai 24 jam dengan suhu 37°C. Amati dan ukur diameter zona hambatnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolat *E. coli* patogen berasal dari sampel swab kloaka, organ dan drag lingkungan ayam petelur yang berasal dari desa Gadingrejo Utara, Kecamatan Gadingrejo Kabupaten Pringsewu. Isolat diambil dari ayam petelur yang menderita koliseptikemia yang ditandai dengan mortalitas tinggi, menurunnya produksi telur, menurunnya kualitas telur yang ditandai dengan tipisnya cangkang telur. Isolat *E.coli* yang positif diuji patogenitasnya dengan menyuntikkan isolat pada mencit. Setelah 24 jam mencit mengalami kematian dan diisolasi jantungnya di media agar darah. Koloni yang tumbuh ditanam di media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA), yang kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan gram dan uji biokimia dengan TSIA, TW, SCA dan MRVP.

Pada media *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) koloni yang tumbuh berwarna hijau metalik. Hasil identifikasi yang dilakukan pada uji biokimia yaitu pada uji SIM hasil positif ditandai bakteri yang tidak bergerak hanya tumbuh di tempat dimana sel tersebut ditanam. Pada uji *Simmons's citrate* hasil positif ditandai bakteri yang diuji negatif, sehingga bakteri tidak mampu meningkatkan pH media yang merubah indikator *brom thymol blue* dalam media dari warna hijau menjadi biru. Pada uji TSIA hasil positif ditandai perubahan media menjadi asam dan berwarna kuning dan terlihat gas, sehingga media bergerak ke atas. Pada uji MR-VP warna kuning menunjukkan reaksi negatif dan warna merah menunjukkan reaksi positif. Pada uji indol, apabila warna merah *cherry* pada permukaan membentuk cincin menandakan reaksi indol positif. Berdasarkan hasil uji-uji yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri, maka dapat disimpulkan ayam layer tersebut mengalami infeksi bakteri *Escherichia coli* (kolibasillosis).

Menurut Berhoff dan Vinal (1986) menjelaskan bakteri *E. coli* patogen terbukti virulen pada mencit. Hal ini dibuktikan dengan kematian mencit dalam waktu 24 jam. Lebih lanjut Malletta *et.al* (2003) menjelaskan *E. coli* yang mampu menyebabkan penyakit di luar saluran pencernaan dan infeksinya meluas disebut sebagai *Avian Pathogenic Escherichia Coli* (APEC).

Hasil uji sensitivitas *Escherichia coli* patogen pada ayam petelur menunjukkan adanya variasi reaksi masing-masing isolate terhadap beberapa jenis antibiotik yang digunakan yaitu *ampicillin*, *oxytetracyclin*, dan *kanamycin* seperti terlihat pada Tabel 1.

Ampicillin menurut CLSI (2017) dikatakan sensitif jika memiliki diameter zona terang 17 mm, zona intermediet 14-16 mm, resisten \leq 13 mm. Oxytetracyclin dikatakan sensitif jika memiliki diameter zona terang 15 mm, zona intermediet 12-14 mm, resisten \leq 11 mm. Sedangkan *kanamycin* dikatakan sensitif jika memiliki diameter zona terang 18 mm, zona intermediet 14-17 mm, resisten \leq 13 mm.

Tabel 1. Hasil analisa uji sensitivitas (rerata zona terang dalam mm) 5 isolat *E. coli* patogen pada ayam petelur terhadap preparat *ampicillin* (AMP), *oxytetracyclin* (OT), *kanamycin* (K)

Isolat	Zona Hambat Antibiotika (mm)		
	AMP (10 µg)	OT (30 µg)	K (30 µg)
Swab cloaca (A11)	12,6 (R)	15,1 (S)	13,48 (I)
Swab cloaca (A12)	15 (R)	16 (S)	14 (I)

Isolat	Zona Hambat Antibiotika (mm)		
	AMP (10 µg)	OT (30 µg)	K (30 µg)
Organ Ginjal (F10)	1,93 (R)	2,23 (R)	1,20 (R)
Organ Usus (H3)	2,3 (R)	3 (R)	3 (R)
Drag lingkungan (F1)	8,91 (R)	0 (R)	15,1 (I)

Tabel 2. Persentase resistensi 5 isolat *E. coli* patogen pada ayam petelur terhadap preparat *ampicillin* (AMP), *oxytetracyclin* (OT), *kanamycin* (K)

Antibiotik	sensitif	Intermediet	Resisten	Persentase (%)	
				Sensitif	Resistensi
<i>Ampicillin</i>	0	0	5	0	100
<i>Oxytetracyclin</i>	2	0	3	40	60
<i>Kanamycin</i>	0	3	2	0	40

Tabel 2 menunjukkan persentase resistensi yang berbeda pada kelima isolate *Escherichia coli* terhadap *ampicillin*, *oxytetracyclin*, dan *kanamycin* yaitu 100% isolat *Escherichia coli* patogen asal ayam petelur resisten terhadap *ampicillin*, 60% resisten terhadap *oxytetracyclin* dan 40% resisten terhadap *kanamycin*.

Antibiotik *kanamycin* merupakan preparat yang memiliki zona terang yang dikategorikan intermediet (Tabel 2). Menurut Krisnaningsih, dkk. 2005, interpretasi intermediet menunjukkan kemungkinan aktivitas tidak optimal yang akan dicapai oleh antibiotik tersebut dalam penggunaan klinis terhadap infeksi karena bakteri yang sama. Penggunaan antibiotik dengan interpretasi intermediet sebaiknya dihindari dan diganti dengan antibiotic lain dari golongan yang sama namun memiliki potensi dan spectrum lebih baik. Para praktisi sering mengambil kebijakan dengan menaikkan dosis antibiotic interpretasi intermediet untuk memperoleh hasil pengobatan yang optimal. Hal ini merupakan salah satu penyebab berkembangnya sifat resistensi bakteri terhadap antibiotik, terutama untuk kepentingan terapi atau pengobatan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *E. coli* multi resisten terhadap ketiga antibiotika yang digunakan, yaitu terhadap ampicillin, oksitetrasiklin dan kanamycin. Ketidakmampuan antibiotika tersebut melawan *E. coli*, disebabkan obat-obatan tersebut sering digunakan oleh peternak untuk pengobatan penyakit bakterial pada ayam. Selain itu, jenis obat tersebut secara umum juga digunakan sebagai imbuhan pakan (Tarmudji, 2003). Pemakaian antibiotika yang monoton dan tanpa prosedur yang benar akan menimbulkan peningkatan resistensi bakteri. Penggunaan antibiotika oleh peternak untuk

terapi maupun sebagai imbuhan pakan, menyebabkan ternak tumbuh lebih cepat, dan disisi lain juga dapat meningkatkan resistensi organisme saluran pencernaan terhadap antibiotika (Bhaskara et al., 2012).

Resistensi E. coli terhadap antibiotik ampisilin dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri menghasilkan enzim b-lactamase yang disandi oleh gen dalam plasmid faktor R. Mekanisme resistensi terhadap Ampisilin yang berhubungan dengan permeabilitas membran, termasuk terjadinya mutasi membran terluar yang umumnya disandi secara kromosomal sehingga lebih stabil dibandingkan dengan sifat resistensi yang disandi oleh gen pada plasmid (Krisnaningsih et al., 2005).

Penggunaan antibiotika dalam pakan ternak yang tidak sakit diduga sebagai penyebab terjadinya resistensi E. coli terhadap antibiotika. Pemberian antibiotika yang tidak sesuai dosis pada pakan ternak unggas dengan tujuan pencegahan penyakit, dapat menyebabkan terganggunya dan matinya bakteri flora normal yang sensitif terhadap antibiotika tersebut. Sementara kelompok yang resisten dan patogen akan tetap tumbuh. Pemakaian antibiotika sebagai pakan tambahan pada unggas (ayam) merupakan suatu permasalahan mendasar yang harus ditangani secara berkelanjutan, karena akan berdampak pada terjadinya resistensi berganda terhadap berbagai obat-obatan antimicrobial.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji kepekaan E. coli patogen yang diisolasi dari swab kloaka, organ dan drag lingkungan ayam petelur yang terinfeksi kolibasilosis di desa Gadingrejo Utara, Kecamatan Gadingrejo Kabupaten Pringsewu menunjukkan bahwa 100% isolat *Escherichia coli* patogen asal ayam petelur resisten terhadap *ampicillin*, 60% resisten terhadap *oxytetracyclin* dan 40% resisten terhadap *kanamycin*. Bakteri E. coli patogen penyebab kolibasilosis pada ayam petelur di daerah tersebut sudah resisten terhadap antibiotika oksitetrasiklin, ampisilin dan Kanamycin.

SARAN

Penggunaan antibiotika oksitetrasiklin, ampisilin, dan kanamycin haruslah berdasarkan anjuran dokter hewan, dan sangat perlu diperhatikan oleh para peternak, mengingat angka resisten antibiotika tersebut tinggi. Penggunaan antibiotika yang tidak tepat dan tidak sesuai dosis yang melalui pakan, minum maupun secara parenteral untuk pencegahan maupun untuk tujuan pengobatan infeksi bakteri pada unggas harus dihentikan.

KETERBATASAN

Pada penelitian ini hanya menggunakan parameter 3 golongan antibiotik untuk mengetahui sensitivitas *E. coli* patogen. Pada penelitian selanjutnya dapat digunakan golongan antibiotik yang lain untuk mengetahui sensitivitasny dan dapat dilanjutkan dengan uji tapis antibiotik pada produk asal hewan untuk mengetahui kemungkinan adanya residu antibiotik .

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M.1995. Principles of Microbiology. Mosby-Year Book.Inc., Missouri. Pp: 261-268, 360-374
- Barus DO, Gelgel KTP, Suarjana IGK. 2013. Uji kepekaan bakteri *Esherichia coli* asal ayam pedaging terhadap antibiotik doksisisiklin, gentamisin dan tiamfenikol. *Indon Med Vet* 2(5): 538545.
- Bhaskara IBM, Budiasa K, Tono Pg K.2012. Uji Kepekaan *Escherichia Coli*sebagai Penyebab Kolibasilosis Pada Babi Muda Terhadap Antibiotika Oksitetrasiklin, Streptomisin,Kanamisin Dan Gentamisin. *Indomedvet* 1(2): 186 – 201
- CLSI. 2017. Performa Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27thEdition. Pp : 33, 36-37
- Krisnaningsih, FMM, Widya A, Wibowo MH., 2005. Uji Sensitivitas Isolat *Escherichia coli* Patogen Pada Ayam Terhadap Beberapa Jenis Antibiotika. *Jurnal SainVet*. Volume I. 1(1): 13-18.
- Luhung, YGA., Suarjana IGK, Gelgel KTP. 2017. Sensitivitas isolate *E.coli* patogen dari organ ayam pedaging terinfeksi koliseptikemia terhadap oxytetracyclin, ampicillin dan sulfametoksazol. *Buletin Veteriner Udayana*. Volume 9 No.1: 60-66. pISSN: 2085-2495; eISSN: 2477-2712 Pebruari 2017
- Retno,F.dkk., 1998. Petunjuk Mendiagnosa Penyakit Ayam. Bandung : Medion
- Tarmudji. 2003. Kolibasilosis pada ayam: etiologi, patologi dan pengendaliannya. *Wartazoa* 13(2): 65-73.