

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI *Salmonella sp* DAN *Escherichia coli* DALAM RANGKA PEMETAAN RESISTENSI ANTIMIKROBA DI PETERNAKAN AYAM PETELUR DAN PEDAGING DI 5 PROVINSI DI PULAU JAWA

Irma Rahayuningtyas, Lilis Sri Astuti, Istiyaningsih, Ernes Andesfha, Neneng Atikah

Balai Besar Pengujian Mutu dan Sertifikasi Obat Hewan, Gunungsindur, Bogor, Jawa Barat
Koresponden penulis pertama: tiaz_dvm@yahoo.com

ABSTRAK

Penyakit enteritis banyak disebabkan oleh *Salmonella sp.* dan *E. coli* yang menginfeksi unggas, mamalia, dan manusia. Bakteri tersebut sangat berbahaya bilamana resisten terhadap antimikroba dan mempunyai gen yang dapat menyebarkan sifat resistensinya ke manusia melalui konsumsi produk unggas yang tercemar bakteri tersebut. Pengkajian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat *Salmonella sp.* dan *E. coli* dalam rangka pemetaan AMR di peternakan ayam petelur dan pedaging dari 5 Provinsi di Pulau Jawa. Sampel dari swab kloaka ayam petelur 282, ayam broiler 173, dan pakan ayam 66 yang diambil secara proporsional dengan metode isolasi sesuai SNI 2987:2008. Isolat *Salmonella sp.* diidentifikasi sampai tingkat serotipe dengan metode PCR dan *Sequencing* dengan primer spesifik *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella thyphimurium*, sedangkan isolat *E. coli* dilakukan uji patogenitas secara invitro dengan media *congo red*. Hasil isolasi dari 282 swab kloaka ayam petelur diperoleh 9 (3,2%) isolat *Salmonella sp.* dan 268 (95%) isolat *E. coli*, dari 273 swab kloaka ayam pedaging diperoleh 34 (12,4%) isolat *Salmonella sp.* dan 258 (94,5%) isolat *E. coli*, sedangkan dari 66 pakan tidak diperoleh isolat *Salmonella sp.* tetapi diperoleh 25 (37,9%) isolat *E. coli*. Hasil uji serotipe 43 isolat *Salmonella sp.* dinyatakan : 21 isolat *Salmonella enteritidis*, 19 isolat *Salmonella thyphimurium*, 2 isolat *Salmonella waycross*, dan 1 isolat *Salmonella typhi*. Hasil uji patogenitas 268 isolat *E. coli*, yang bersifat patogen sebanyak 48 (17,9%) berasal dari ayam petelur, 39 (15,1%) berasal dari ayam pedaging, dan 1 (4%) dari pakan. Semua isolat selanjutnya akan dilakukan uji resistensi antimikroba oleh Unit Uji Farmasetik dan Premiks. Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan bahwa beberapa peternakan ayam petelur dan pedaging sudah terinfeksi oleh *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, dan *E. coli* patogen yang sangat berbahaya bagi manusia, hal ini perlu ditindaklanjuti dengan perbaikan sistem biosekuriti pada peternakan ayam dibawah pengawasan Dinas terkait, serta program monitoring untuk mengontrol cemaran di peternakan ayam tersebut.

Kata Kunci : *Salmonella sp.*, *E. coli*, uji serotipe, uji patogenitas, PCR, *sequencing*

PENDAHULUAN

Salmonellosis adalah penyakit pada manusia karena berkaitan dengan kasus *foodborne disease* dan menimbulkan kerugian ekonomi yang besar pada industri perunggasan di seluruh dunia, yang diperkirakan mencapai 3,7 milyar dollar Amerika Serikat (Gast, 1997; USDA, 2015). *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella typhimurium* adalah serotipe yang banyak diisolasi dari kasus Salmonellosis pada manusia dan unggas. Telur, daging, dan produknya yang tercemar *Salmonella* adalah media yang dapat menyebarkan *Salmonella* pada manusia. Penyebaran *S. enteritidis* disebabkan oleh kontaminasi feses, pakan, air minum, dan kerabang telur dari peternakan ayam (Saeed, 1999; EFSA, 2017).

Kolibasilosis juga dapat menimbulkan kerugian ekonomi yang besar pada industri perunggasan di seluruh dunia (Ewers et al., 2003). Penyakit

ini disebabkan oleh *Avian Pathogenic E. coli* (APEC) didominasi oleh tiga serogroup yaitu O1, O2, dan O78. *E. coli* adalah flora normal dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, namun demikian serotipe patogen dapat menyebabkan sakit pada manusia dan hewan (Ewings, 1986). Peternakan ayam yang tercemar dapat berpotensi menyebarkan *Salmonella* dan *E. coli* patogen sehingga diperlukan monitoring adanya bakteri tersebut dalam suatu peternakan secara periodik.

Industri perunggasan di Indonesia masih bergantung pada penggunaan antimikroba secara luas untuk meningkatkan produktivitas dan kesehatan. Berbagai antimikroba digunakan termasuk arsenikal, polipeptida, glikolipida, tetrasiklin, elfamisin, makrolida, lincosamide, polyether, betalactam, quinoxaline, streptogramin, dan sulfonamide. Penggunaan antimikroba yang tidak bijak dapat menyebabkan resistensi antimikroba (Sarmah *et al.*, 2006; Wright, 2007; Livermore, 2009). Dampak buruk resistensi antimikroba yaitu dapat menurunkan efektivitas penggunaan antimikroba, menyebabkan penyakit sulit untuk diobati, meningkatkan mortalitas, dan menimbulkan kerugian ekonomi yang besar.

Penggunaan *Salmonella sp* dan *E. coli* untuk pengujian AMR disebabkan karena bakteri tersebut dapat resisten terhadap antibiotik dan dapat mentransfer gen yang resisten ke bakteri lain yang terdapat pada hewan dan dapat menginfeksi manusia baik melalui rantai makanan atau kontak langsung (JETACAR, 1999; Butaye *et al.*, 2003; Noor *et al.*, 2006).

Pada kajian ini dilakukan isolasi dan identifikasi *Salmonella sp* dan *E. coli* dari sampel swab kloaka ayam petelur dan pedaging serta pakan yang ada di kandang dari peternakan ayam petelur dan pedaging di 5 provinsi di Pulau Jawa dengan metode kultur. Isolat *Salmonella sp* yang diperoleh dilanjutkan dengan uji serotipe menggunakan metode PCR dan *Sequencing*, sedangkan isolat *E. coli* dilanjutkan uji patogenitas secara invitro menggunakan media *congo red Agar*. Semua isolat yang didapat selanjutnya akan dilakukan uji resistensi antimikroba oleh Unit Uji Farmasetik dan Premiks.

TUJUAN

Dari kajian ini diharapkan dapat diketahui prevalensi *Salmonella sp* dan *E. coli* patogen di peternakan ayam petelur dan pedaging di 5 provinsi Pulau Jawa, serta didapatkan isolat *Salmonella sp* dan *E. coli* untuk uji resistensi antimikroba.

MATERI DAN METODE

Sampel Pengkajian

Dalam kegiatan pengkajian ini diperoleh sampel swab kloaka ayam petelur sebanyak 282 sampel, swab kloaka ayam pedaging sebanyak 273 sampel, dan sampel pakan sebanyak 66 sampel. Sampel diambil dari peternakan ayam petelur dan pedaging komersial di 5 Provinsi di Pulau Jawa, sampel pakan diambil dari tempat pakan yang ada di dalam kandang. Metode pengambilan sampel menggunakan *Proportionate Random Sampling*. Unit epidemiologi terkecil dalam kajian ini adalah flock dan penghitungan besaran sampel menggunakan rumus *cross sectional*.

Isolasi *Salmonella sp* dan *E. coli*

Prosedur isolasi yang digunakan adalah kultur berdasarkan SNI 2987 : 2008 yang meliputi tahap pra-pengayaan, pengayaan, agar selektif, purifikasi, uji biokimia, dan penyimpanan stok. Setiap tahapan isolasi dilakukan secara berurutan. Sampel yang menunjukkan reaksi positif diduga *E. coli* dan *Salmonella sp.* pada media yang telah diinokulasi pada setiap tahapan akan dilanjutkan ke tahapan selanjutnya, sedangkan pada sampel yang mempunyai reaksi negatif akan dihentikan proses isolasinya.

Uji Serotipe *Salmonella* dengan metode PCR Ekstraksi DNA

Isolat *Salmonella sp* yang didapatkan dari kultur diremajakan dengan menginokulasikan 1 ose isolat ke dalam media *Heart Infusion Broth* (HIB) dan diinkubasi pada suhu 35 °C selama 24 jam \pm 2 jam. Selanjutnya transfer 1 ose isolat *Salmonella sp.* dari media HIB ke dalam media HIA dan inkubasikan pada suhu 35 °C selama 24 jam \pm 2 jam. Ambil 4 – 5 ose isolat *Salmonella sp* dari media HIA untuk diekstraksi menggunakan PrepMan[®] Ultra Sample Preparation Reagen (Applied Biosystems, USA)

Master Mix

Untuk konfirmasi Genus *Salmonella* menggunakan sepasang primer spesifik gen ompC *Salmonella* genus *Reference Juan Alvarez et 2004*, forward ompC ATCGCTGACTTATGCAATCG dan reverse ompC CGGGTTGCGTTATAGGTCTG dengan panjang amplicon 204 bp. Untuk uji serotipe serovar Enteritidis menggunakan sepasang primer spesifik gen ENT *Salmonella* serotipe Enteritidis *Reference Juan Alvarez et 2004*, forward ENT F TGTGTTTTATCTGATGCAAGAGG dan reverse ENT FTGA ACTACGTTTCGTTCTTCTGG dengan panjang amplicon 304 bp. Untuk uji serotipe serovar Typhimurium menggunakan sepasang primer

spesifik gen TYPH *Salmonella* serotipe Typhimurium *Reference Juan Alvarez et 2004*, forward Typh TTGTTCACTTTTTACCCCTGAA dan reverse Typh CCCTGACAGCCGTTAGATATT dengan panjang ampikon 401 bp. Reagen Master Mix PCR menggunakan HotStarTaq® Master Mix Kit (Qiagen, USA) 12.5 µL, Primer F dan R (sesuai serotipe) masing - masing (20µM) 1 µL, RT PCR Grade Water 5.5 µL, DNA hasil ekstraksi 5 µL.

Amplifikasi

Tahap amplifikasi *Salmonella sp*, *Salmonella* serotipe Enteritidis, *Salmonella* serotipe Typhimurium menggunakan protocol berikut : Hot Start 95°C 15 menit, Denaturasi 30 cycle : 94 °C 1 menit, *Annealing* 57.5 °C (Serotipe Enteritidis) dan 58.5°C (*Salmonella sp* dan Serotipe Typhimurium) masing – masing 1 menit, Elongasi 72°C 1 menit, dan Elongasi Final 72°C 10 menit.

DNA Sequencing

Jika didapatkan hasil negatif dengan kedua primer tersebut maka dilanjutkan identifikasi menggunakan *Sequencing* dengan target gen ompC dan analisis BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*).

Uji Patogenitas *E. coli* secara invitro

Hasil isolat *E.coli* dilakukan uji patogenisitas secara invitro menggunakan media *congo red* agar. Koloni pada biakan *E.coli* yang sudah di purifikasi dibiakkan pada media *congo red* agar, lalu inkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam, kemudian dilanjutkan inkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Koloni yang berwarna merah (mengikat *congo red*) adalah isolat *E.coli* patogen sedangkan koloni yang berwarna putih (tidak mengikat *congo red*) adalah isolat *E.coli* non patogen.

HASIL

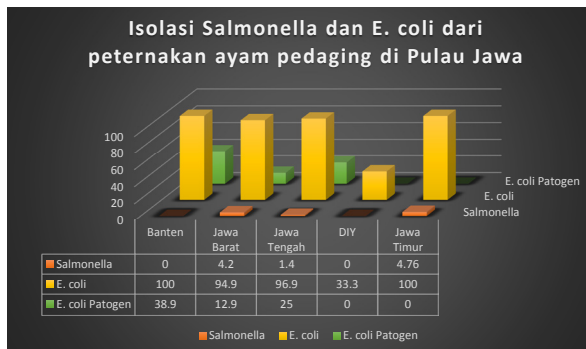
Dalam kegiatan pengkajian ini diperoleh 282 sampel swab kloaka ayam petelur, 273 sampel swab kloaka ayam pedaging, dan sampel pakan yang ada dikandang sebanyak 66 sampel. Dari seluruh sampel tersebut dilakukan isolasi *Salmonella sp* dan *E. coli* dan didapatkan 43 isolat *Salmonella sp* dan 551 isolat *E. coli*. Hasil isolasi *Salmonella* dan *E. coli* dari peternakan ayam pedaging di Pulau Jawa dapat dilihat dalam Grafik 1 dan hasil isolasi *Salmonella* dan *E. coli* dari peternakan ayam petelur di Pulau Jawa dapat dilihat dalam Garfik 2.

Prevalensi *Salmonella sp.* dari ayam pedaging berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa adalah 34/273 (12,4%). Prevalensi ditemukannya *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella typhimurium* hampir sama yaitu 16/34 (47%) dan

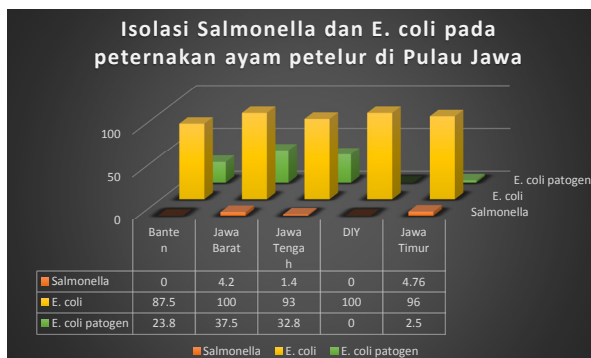
17/34 (50%), sedangkan prevalensi 1/34 (2,9%) didapatkan isolat *Salmonella waycross*. Dari 66 sampel pakan baik dari kandang ayam pedaging dan petelur yang diambil tidak ditemukan isolat *Salmonella sp.* Hasil isolasi *Salmonella sp.* dari ayam petelur berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa didapatkan prevalensi *Salmonella sp* sebanyak 9/282 (3,2%), *Salmonella enteritidis* yang didapatkan yaitu 5/9 (55,5%), *Salmonella typhimurium* yang didapatkan yaitu 2/9 (22,2%), sedangkan isolat *Salmonella* yang lain yaitu sebanyak 2/9 (22,2%) yaitu *Salmonella waycross* dan *Salmonella typhi*.

Hasil isolasi *E. coli* dari ayam pedaging berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa diketahui prevalensi *E. coli* yang didapatkan sebanyak 258/273 (94,5%). Dari 258 isolat *E. coli* yang diperoleh diketahui bahwa 39 (15,1%) isolat adalah *E. coli* patogen. Hasil isolasi *E. coli* dari ayam petelur berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa diketahui bahwa prevalensi *E. coli* dari ayam petelur berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa adalah 268/282 (95%). Dari 268 isolat *E. coli* yang diperoleh diketahui bahwa 48 (17,9%) isolat adalah *E. coli* patogen.

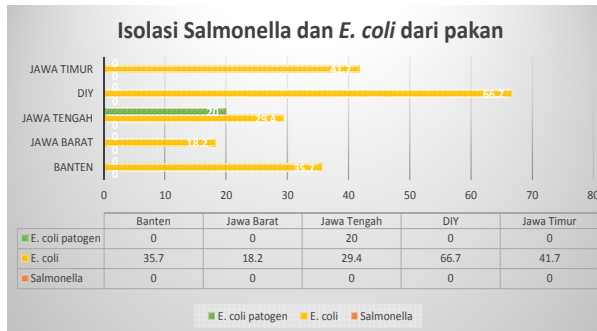
Grafik 1. Hasil isolasi *Salmonella* dan *E. coli* dari peternakan ayam pedaging di Pulau Jawa



Grafik 2. Hasil isolasi *Salmonella* dan *E. coli* dari peternakan ayam petelur di Pulau Jawa



Grafik 3. Hasil isolasi Salmonella dan E. coli dari pakan di peternakan ayam petelur dan pedaging di Pulau Jawa



Grafik 3 menyajikan tentang hasil isolasi *E. coli* dari pakan yang diambil dalam kandang peternakan ayam petelur dan pedaging dari 5 provinsi di Pulau Jawa. Dari total 66 sampel pakan yang diperoleh, didapatkan isolat *E. coli* sebanyak 25 isolat (37,9%), dari isolat positif *E. coli* tersebut diperoleh hasil 1 isolat merupakan *E. coli* patogen.

PEMBAHASAN

Pengkajian *E. coli* dan *Salmonella sp* ini dilakukan oleh Unit Uji Bakteriologi BBPMSOH dalam rangka pemetaan Resistensi Antimikroba di peternakan ayam petelur dan pedaging di 5 Provinsi di Pulau Jawa. Adapun isolasi dan identifikasi *E. coli* dan *Salmonella sp* dilakukan dengan teknik kultur sesuai SNI 2987 : 2008, uji serotipe Salmonella dengan metode PCR dan *sequencing*, serta uji patogenisitas *E. coli* secara invitro dengan media *congo red agar*.

E. coli adalah bakteri yang berbentuk batang, gram negatif merupakan penghuni normal dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, namun demikian serotipe tertentu dapat menyebabkan sakit pada manusia dan hewan (Ewings, 1986). Kolibasilosis pada unggas umumnya disebabkan oleh *Avian Pathogenic E. coli* (APEC) yang sejauh ini didominasi oleh tiga serogroup yaitu O1, O2, dan O78. Penggunaan media *congo red* dilakukan untuk mengetahui sifat patogenitas bakteri. Isolat yang bereaksi positif terhadap *congo red* menyebabkan ayam mengalami kolibasilosis dan isolat tersebut dapat diisolasi ulang, sementara pada isolat yang negatif *congo red* tidak diisolasi ulang. Hal ini mengindikasikan bahwa pengikatan *congo red* oleh isolat dapat digunakan sebagai penanda fenotip untuk membedakan isolat invasif dan non-invasif (Berkhoff and Vinal, 1985). Menurut Gjessing dan Berkhoff (1988), ada korelasi yang kuat antara ekspresi fenotip *E. coli* pada media *congo red* dengan sifat virulensinya.

Hasil prevalensi *E. coli* dari ayam pedaging berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa adalah 258/273 (94,5%). Dari 258 isolat *E. coli* yang diperoleh diketahui bahwa 39 (15,1%) isolat adalah *E. coli* patogen. Sedangkan prevalensi *E. coli* dari ayam petelur berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa adalah 268/282 (96%). Dari 268 isolat *E. coli* yang diperoleh diketahui bahwa 48 (17,9%) isolat adalah *E. coli* patogen. Tingginya prevalensi *E. coli* pada peternakan ayam pedaging dan petelur karena bakteri ini merupakan mikroflora normal dalam saluran pencernaan manusia dan hewan, akan tetapi beberapa galur bersifat patogenik (Gyles, 1983). Infeksi *E. coli* patogen pada unggas umumnya bersifat sistemik dan menimbulkan bakteremia (Bisping *et al.*, 1988). Bakteri tersebut mampu menyebar melalui peredaran darah sehingga dapat menyebabkan kerusakan dari berbagai organ seperti perihepatitis, perikarditis, airsakulitis, mesentiritis, ooforitis, salpingitis, arthritis, panophthalmitis, dan koligranuloma atau *Hjarre's Disease* (Lafont *et al.*, 1987; Tabbu, 2000). Menurut Peighambari (1995) dan Brito (2003), selulitis cenderung menginfeksi ayam pedaging dan menyebabkan kerusakan karkas dan peningkatan angka afkir sampai 42,5%. Oleh karena itu, secara ekonomi, infeksi *E. coli* patogen pada unggas sangat merugikan peternak (Wooley, *et al.*, 2000; Knobl *et al.*, 2006).

Hasil isolasi *E. coli* dari pakan yang diambil di dalam kandang berasal dari 5 provinsi di Pulau Jawa menunjukkan dari total 66 sampel pakan yang diperoleh dari peternakan ayam pedaging dan petelur didapatkan isolat *E. coli* sebanyak 25 isolat (37,9%), dari isolat positif *E. coli* tersebut diperoleh hasil 1 isolat merupakan *E. coli* patogen. *Salmonella sp* dan *E. coli* merupakan bakteri yang harus diperhatikan karena sering mencemari bahan pakan seperti tepung tulang dan tepung ikan (Raghavan, 1997). Bakteri tersebut merupakan sumber penyakit yang dapat masuk ke peternakan unggas. Cara pencegahan agar pakan bebas *Salmonella sp* dan *E. coli* harus dimulai dari bahan baku masuk ke dalam pabrik pakan ternak. Menurut Suwito (2010), usaha untuk mengurangi kontaminasi *E. coli* dan *Salmonella sp* dalam pakan ternak diperlukan suatu sistem pemeriksaan yang menyeluruh mulai dari penerimaan bahan baku, pembersihan fasilitas dalam pabrik pakan, perlakuan panas yang efektif dalam proses pembuatan pakan dan mencegah kontaminasi ulang terhadap pakan yang sudah jadi. Usaha lain yang dapat dilakukan untuk menghasilkan pakan yang aman digunakan antara lain menyingkirkan faktor yang berbahaya dari pakan, mencegah perkembangan mikroorganisme dalam pakan dan menghilangkan binatang liar yang dapat mencemari pakan. Tikus dan burung yang bebas berkeliaran di dalam gudang dan fasilitas pabrik serta membuang kotoran di sembarang tempat dapat menjadi sumber kontaminasi *Salmonella sp* dan *E. coli*. Selain tikus dan burung liar, sumber kontaminasi lainnya antara lain kutu, serangga dan jamur. Jamur perlu diperhatikan karena akan mudah tumbuh dan berkembang apabila disimpan ditempat yang lembab. Oleh karena itu tempat penyimpanan pakan dan bahan pakan merupakan hal yang penting serta penempatan pakan sebaiknya diletakkan dalam ruangan yang kering, bersih dan tidak lembab.

Penerimaan untuk bahan pakan seperti jagung, kadar air perlu diperhatikan. Kadar air yang tinggi menyebabkan jamur mudah tumbuh dan berkembang.

Salmonellosis adalah penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Salmonella enteritica*, ada lebih dari 2500 serotipe *Salmonella*. Spesies *Salmonella* infeksius yang paling sering ditemukan yaitu *Salmonella enteritidis* dan *Salmonella typhimurium*. Teknik yang paling umum dan merupakan *gold standard* untuk mendeteksi *Salmonella* adalah metode konvensional dengan kultur. Metode ini adalah dasar dari analisis yang mudah untuk diterapkan lebih ekonomis bila dibandingkan dengan identifikasi berbasis molekular. Akan tetapi teknik ini membutuhkan waktu yang lebih lama sekitar 5 hari dan membutuhkan beberapa tahap untuk konfirmasi dan identifikasi, serta sering mendapatkan positif palsu karena adanya kuman kompetitor *Salmonella*, salah satunya yaitu *Proteus*. Pada media agar selektif XLD dan BSA koloni kuman *Proteus sp.* sangat mirip dengan koloni kuman *Salmonella sp.* sehingga dapat terjadi misidentifikasi. Media kromogenik digunakan karena lebih mudah dalam menginterpretasikan koloni positif *Salmonella sp.* yang ditunjukkan dengan koloni berwarna yang berbeda dengan warna koloni kuman *Enterobacter* lain yang berperan sebagai kompetitor, sehingga dapat mempersingkat waktu pada tahap purifikasi menggunakan agar selektif. Validitas media tersebut dibuktikan dengan hasil yang linear pada saat konfirmasi dengan uji biokimia IMVIC dan saat identifikasi *Salmonella sp.* dengan metode PCR menggunakan primer spesifik *Salmonella sp.*

Pada pengkajian ini teknik PCR digunakan untuk konfirmasi hasil kultur dan menentukan serotipe isolat *Salmonella* yang didapatkan. Oliveira *et al.* (2002) menyebutkan bahwa PCR mempunyai sensitivitas lebih tinggi bila dibandingkan dengan teknik kultur dan menunjukkan hasil positif yang lebih banyak. PCR dapat mendeteksi DNA dari organisme yang hidup dan yang mati sehingga tepat digunakan pada pengkajian yang bertujuan untuk melihat ada tidaknya sekuen genetik *Salmonella* (kualitatif), sedangkan pada teknik konvensional (kultur) adalah berdasarkan teknik pengayaan, sehingga tergantung dari target dan kompetisi organisme sehingga beresiko untuk tidak terdeteksi pada media agar selektif, PCR dapat mengurangi resiko ini. PCR juga memiliki keunggulan karena dapat mendeteksi dalam waktu yang lebih singkat (Fries and Steinhof, 1997).

Dari 282 sampel swab kloaka ayam petelur dan 273 swab kloaka ayam pedaging didapatkan 43 isolat *Salmonella sp.* Dari ke 43 isolat tersebut setelah dilakukan uji serotipe dengan menggunakan metode PCR dengan hasil 21 isolat adalah *Salmonella enteritidis*, 19 isolat adalah *Salmonella typhimurium*, 2 isolat adalah *Salmonella waycross*, dan 1 isolat adalah *Salmonella typhi*, sedangkan dari 66 sampel pakan yang diperoleh tidak ditemukan isolat *Salmonella sp.* Adanya kontaminasi dan infeksi *Salmonella sp.* pada suatu peternakan dengan sanitasi baik dan sanitasi buruk dapat

disebabkan oleh penyebaran *Salmonella sp.* yang sering terjadi melalui kotoran yang telah terkontaminasi dan mencemari pakan, air minum, dan kerabang telur tetas.

Salmonella enteritidis dikenal sebagai patogen yang penting, baik pada unggas dan manusia. Infeksi *Salmonella enteritidis* pada ayam umur lebih dari 2 minggu biasanya tidak menimbulkan gejala klinis dan tidak mematikan, tetapi ayam yang sembuh dari infeksi dapat menjadi karier menahun yang sewaktu-waktu dapat mengekskresikan bakteri *Salmonella enteritidis* pada fesesnya, pada beberapa kasus Salmonellosis dapat menimbulkan gejala klinis enteritis. Manifestasi gejala klinis dapat berupa septikemia, enterokolitis, anoreksia, diare profus dan kadang-kadang meningitis, pneumonia, dan encephalitis (Gast, 1997 ; Poernomo *et al.* , 1997).

Salmonella typhimurium dapat hidup didalam pakan dan litter selama minimal 18 bulan pada temperatur 11°C; dan sekitar 40 hari di dalam pakan; dan 13 hari di dalam litter pada temperatur 38 °C. *Salmonella sp.* dapat hidup berbulan-bulan di dalam kotoran pada suatu lapangan terbuka dan selama 28 bulan di dalam feses unggas yang terinfeksi secara alami. Dilaporkan bahwa feses yang dicampur dengan *Salmonella typhimurium* yang dioleskan pada permukaan kerabang telur ayam dapat menembus kerabang dan terjadi multiplikasi di dalam telur yang dapat menginfeksi embryo. Salmonella dapat mencemari anak ayam dari inkubator melalui telur tercemar (Subdit Pengamatan Penyakit Hewan, 2014).

Pemberian obat sering diberikan peternak untuk tujuan pencegahan infeksi Salmonella tetapi tidak memberikan hasil yang memuaskan karena tidak efektif (Gast,1997). Pengobatan dengan antimikroba mungkin dapat menyembuhkan atau efektif dalam menekan jumlah kematian sel bakteri tetapi tidak menghilangkan infeksi atau mengeliminasi penyakit dari peternakan (Dharmojono, 2001; Poernomo, 2004). Pemberian antimikroba tersebut dapat menimbulkan resistensi terhadap Salmonella (Gast, 1997; Barrow, 1993). Menurut Supardi *et al.* (1999), Resistensi bakteri terhadap antibiotika dikendalikan oleh adanya plasmid yang disebut faktor R atau akibat dari mutasi terjadinya transfer kromosom melalui suatu plasmid F+. Kontroversi penggunaan antimikroba pada kasus Salmonellosis pada saluran pencernaan unggas karena antibiotika peroral dapat merusak mikroflora usus. Perlu dipertimbangkan jenis antimikroba yang akan diberikan karena Salmonella bersifat intraseluler, oleh karena itu sebaiknya memilih antimikroba yang dapat mengadakan penetrasi ke dalam sel. Salmonella dalam saluran pencernaan sulit dihilangkan karena bakteri berada dalam sirkulasi sistem empedu dan secara intermiten bakteri akan masuk ke dalam lumen alat pencernaan bersama empedu tersebut dan diekskresikan melalui

feses yang dapat mencemari lingkungan dan dapat menginfeksi hewan lain atau manusia, bahkan tidak jarang *Salmonella* bertahan hidup dalam jaringan limfatik (Dharmojono, 2001).

Cara terbaik untuk menanggulangi Salmonellosis adalah mencegah masuknya *Salmonella sp.* kedalam suatu kelompok ayam dengan praktek manajemen biosekuriti yang tepat dan optimal, serta sanitasi dan desinfeksi yang ketat. Ayam harus dipelihara dalam kandang yang dapat didesinfeksi agar bebas dari cemaran *Salmonella* dari periode pemeliharaan sebelumnya. Pakan dan air minum yang diberikan juga harus bebas dari cemaran *Salmonella*. Selain itu juga menghilangkan sumber dan faktor pendukung terjadinya infeksi yaitu ayam carrier, rodens, unggas dan hewan lain, serta sanitasi dan biosekuriti pada pekerja kandang atau pengunjung, dan alat transportasi. Beberapa desinfektan seperti formaldehid efektif untuk membunuh *Salmonella* pada tanah ataupun pada kandang.

Penggunaan *Salmonella sp* dan *E. coli* untuk pengujian AMR disebabkan karena bakteri tersebut dapat mentransfer gen yang resisten ke bakteri lain. Bakteri *Salmonella*, *Campylobacter*, *Enterococci*, dan *Escherichia coli* merupakan contoh bakteri yang dapat resisten terhadap antibiotik dan dapat mentransfer gen yang resisten tersebut ke bakteri lain yang terdapat pada hewan dan dapat menginfeksi manusia baik melalui rantai makanan atau kontak langsung (JETACAR, 1999; Butaye *et al.*, 2003; Noor *et al.*, 2006). Dalam pengkajian ini keseluruhan isolat yang didapat akan dilakukan Uji Resistensi Antimikroba di Unit Uji Farmasetik dan Premiks.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Hasil isolasi dari 282 swab kloaka ayam petelur diperoleh 9 (3,2%) isolat *Salmonella sp.* dan 268 (95%) isolat *E. coli*, dari 273 swab kloaka ayam pedaging diperoleh 34 (12,4%) isolat *Salmonella sp.* dan 258 (94,5%) isolat *E. coli*, sedangkan dari 66 pakan tidak diperoleh isolat *Salmonella sp.* tetapi diperoleh 25 (37,9%) isolat *E. coli*.
2. Berdasarkan hasil pengkajian, beberapa peternakan ayam petelur dan pedaging di 5 Provinsi di Pulau Jawa sudah terinfeksi oleh *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, dan *E. coli* patogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Alvarez, J., Sota, M., Vivance, A. B., Perales, I., Cisterna, R., Rementeria, R., Garaizar, J. 2004. *Development of a Multiplex PCR Technique for Detection and Epidemiological Typing of Salmonella in Human Clinical Samples*. Journal of Clinical Microbiology, Apr. 2004, p. 1734–1738. DOI: 10.1128/JCM.42.4.1734–1738.2004.
- Barrow ,P.A. 1993. *Salmonella control-past, present and future*. Avian Path. 22:651-669.
- Berkhoff, H. A. and A. C. Vinal. 1985. *Congo Red Medium to Distinguish Between Invasive and Non invasive Escherichia coli Pathogenic for Poultry*. Avian Disease Vol. 30 No. 1, pp: 117-121.
- Bisping, W, Amtsberg, G.A. 1988. *Color Atlas for The Diagnosis of Bacterial Pathogen in Animal*. Berlin : Paul Parey Scientific Publishers. Hal : 160 – 168.
- Brito B.G, Gaziri, L.C., Vidotto,M.C. 2003. *Virulence Factors and Clonal Relationship Among Escherichia coli Strains Isolated from Broiler Chickens with Cellulitis*. J. Infect Immun 71 : 4175 – 4177.
- Butaye P, Devise LA, Hasebrouck F. 2003. *Antimicrobial growth promoters used in animal feed: effects of less well known antibiotics on Gram positive bacteria*. Clin Microbiol Rev 16(2): 175–188.
- Dharmojojo. 2001. *Penyakit Tifus (Salmonellosis). Dalam Penyakit menular dari binatang ke manusia*. Edisi Pertama. Milenia Populer. Hal : 111-121.
- EFSA. 2017. *EU summary report on zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks 2016*. EFSA Journal 2017;15(12):5077. www.efsa.europa.eu/efsajournal.
- Ewers, C., Janssen, T., Wieler, L.H. 2003. *Avian Pathogenic Escherichia Coli (APEC)*. Berl Munch Tierarztl Wochenschr.Sep-Oct;116(9-10):381-95.
- Ewings, W.H, 1986 . *Identification of enterobacteriaceae* 4' th Ed. Elsevier, New York.
- Fries, R., Steinhof, U. 1997. *Growth kinetics of Salmonella in mixed cultures incubated in Rappaport Vassiliadis Medium.*, Food Microbiol, vol. 14 (pg. 505-513)

- Gast, R.K. 1997. *Paratyphoid infections In Disease of Poultry*. Tenth Edition. Calnek, B. W. H. J. Barnes, C. W. Beard, L. R. McDougald and Y.M. Saif (Eds.). Iowa State university Press, Ames, Iowa, USA. Pp 97-112.
- Gjessing, K. M. and Berkhoff, H. A. 1988. *Experimental Reproduction of Airsacculitis and Septicemia by Aerosol Exposure of 1-Day-Old Chicks Using Congo Red Positive Escherichia coli*. Avian Diseases Vol. 30 No. 6 pp:473-478.
- Gyles, C.L. 1983. *Escherichia coli. Pathogenesis of Bacterial Infection in Animal*. Gyles, C.L and Thoen C. O. (eds) Second Edition. Ames : Iowa State University Press. Hal : 164 – 187.
- [JETACAR] Joint Expert Advisory Committee On Antibiotic Resistance Australia. 1999. *The use Antibiotic in Food Producing Animals: Antibiotic resistance Bacteria in Animals and humans*. Darwin (AU): Commonwealth of Australia.
- Knobl, T., Gomes, T.A.T., Veira, M.A.M., Bottino, J.A., Ferreira, A.J.P. 2006. *Occurance of Adhesin Encoding Operons in Escherichia coli Isolated from Breeder with Salpingitis and Chick with Omphalitis*. Braz J Microbiol 37.
- Lafont, J. P., Maryvone, D., Elena, M.D, Hauteville, Breed A., Sansonetti, J. P. 1987. *Presence and Expression of Aerobactin Genes in Virulent Avian strains of Escherichia coli*. *J Infect Immun* 55 : 193 – 197.
- Livermore, D. M. 2009. *Has the era of untreatable infections arrived?* *J Antimicrob Chemother* 64: i29–i36.
- Noor SM, Poelongan M. 2005. *Pemakaian antibiotik pada ternak dan dampaknya pada kesehatan manusia*. Prosiding Lokakarya Nasional Keamanan Pangan Produk Peternakan. Bogor (ID): Puslitbang Peternakan.
- Oliveira S. D., Santos L. R., Schuch D. M. T., Silva A. B., Salle C. T. P., Canal C. W. *Detection and identification of salmonellas from poultry-related samples by PCR.*, *Vet. Microbiol.*, 2002, vol. 87 (pg. 25-35)[PubMed]
- Peighambari, S.M., Julian S.M., Gyles C.L. 2000., *Presence and Expression of Aerobactin Genes in Virulent Avian strains of Escherichia coli*. *J Infect Immun* 55 : 193 – 197.
- Poernomo, S., I. Rumawas dan A. Sarosa. 1997. *Infeksi Salmonella enteritidis pada anak ayam pedaging dari peternakan pembibit : Suatu laporan kasus*. *JITV* 2(3):194-197.

- Poernomo, S. 2004. *Variasi Tipe Antigen Salmonella pullorum yang ditemukan di Indonesia dan penyebaran serotipe Salmonella pada ternak(PO)*. *Wartazoa* 14(4): 143-159.
- Raghavan, V. 1997. *The concept of quality control to improve feed quality for poultry production*. Asia Focus Proceeding VIV Seminars on Poultry and Pig Production. Misset International. Pp:57-59.
- Saeed, A. M. 1999. *Salmonella enteritica serovar Enteritidis in Human and Animals : Epidemiology, Pathogenesis, and Control*. Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Sarmah, A.K., Meyer, M.T., dan Boxall, A.B. 2006. *A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment*. *Chemosphere* 65(5):725–759.
- Subdit Pengamatan Penyakit Hewan. 2014. *Manual Penyakit Unggas*. Direktorat Kesehatan Hewan. Direktorat Jenderal Peternakan dan Kesehatan Hewan Kementerian Pertanian. Cetakan 2. p : 145 – 148.
- Supardi ,I. dan Sukamto, 1999. *Mikroorganisme penyebab penyakit menular. Dalam Mikrobiologi dalam pengolahan dan keamanan pangan*. Edisi Pertama, Yayasan Adikarya IKAPI dengan The Ford Foundation. Hal. 157-173.
- Suwito, W. 2010. *Monitoring Salmonella sp dan Escherichia coli dalam Bahan Pakan Ternak*. *Buletin Peternakan* Vol. 34(3):165-168.
- Tabbu. C.R. 2000. *Kolibasilosis, Dalam Penyakit Ayam dan Penanggulangannya*. Penerbit Kanisius, Jogjakarta. Vol 1, hal. 31 – 51.
- USDA (United States Department of Agriculture). 2015. *Economic Research Service*. Available from:<http://www.ers.usda.gov/data-products/chart-gallery/detail.aspx?char-tId=50500>.
- Wooley, R.E, Gibbs, P.S, Brown, T.P., Maurer J.J. 2000. *Chicken Embryo Lethality Assay for Determining The Virulence of Avian Escherichia coli Isolates*. *Avian Dis.* 44 : 318 – 324.
- Wright, G. D. 2007. *The Antibiotic Resistome: The Nexus of Chemical and Genetic Diversity*. *Nat Rev Microbiol* 5:175–186.