

# UJI SENSITIVITAS BAKTERI *Escherichia coli* ISOLAT ASAL AYAM YANG BEREAKSI POSITIF PADA MEDIA CONGO RED TERHADAP PREPARAT AMPISILIN, STREPTOMISIN DAN ENROFLOKSASIN

SENSITIVITY TEST *Escherichia coli* OF CHICKEN ISOLATES WITH CONGO RED POSITIVES AGAINST AMPICILIN, STREPTOMICIN AND ENROFLOXACIN

Widagdo Sri Nugroho<sup>1</sup>, Michael Haryadi Wibowo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner FKH UGM, <sup>2</sup> Bagian Mikrobiologi, FKH UGM

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui resistensi bakteri *E.coli* isolat ayam yang bereaksi positif pada media *congo red* terhadap preparat ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin. Delapan biak murni bakteri *E.coli* yang diisolasi dari kasus kolibasilosis ayam diuji afinitasnya terhadap zat warna merah kongo. Bakteri yang bereaksi positif pada media *congo red* tersebut, kemudian diuji sensitivitasnya menggunakan media agar *Mueller-Hinton*, metode disk difusi menurut Kirby-Bouer. Disk antibiotika ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin diposisikan menggunakan *dropper* pada permukaan kultur bakteri tersebut, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter zona terang disekililing disk antibiotik yang terbentuk, kemudian diukur dalam satuan milimeter. Hasil pengukuran tersebut dibandingkan dengan referensi dan atau menurut standar interpretasi Kirby-Bouer. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, seluruh bakteri *E. coli* isolat asal ayam, mempunyai penampilan penotif mengikat zat warna merah kongo, ternyata 100 % resisten terhadap preparat ampisilin, streptomisin dan enrofloksasin.

**Kata kunci:** resistensi, *Escherichia coli*, *congo red*, antibiotika

## ABSTRACT

The aim of this research was to find out the development of the resistancies of *Escherichia coli* avian isolates which indicated positive reaction on congo red medium against ampicilin, streptomycin and enrofloxacin. Eight of pure cultures of *E. coli* isolates obtained from avian colibacillosis have been tested for the affinity of congo red dyes, and the sensitivity on *Muller-Hinton* agar (MHA) media against ampicilin, streptomycin and enrofloxacin, based on Kirby-Bouer methode. Disc of these antibiotics were placed on the cultures of *E. coli* at the surface of MHA media, incubated at 37 ° C for 24 hours. The diameter of inhibitor area around the disc, measured on mm and compared to the references. The result of this study indicated that all of *E. coli* chicken isolates showed positive reaction on congo red media and 100 % resistant to ampicilin, streptomycin and enrofloxacin.

**Key words:** resistancy, *Escherichia coli*, congo red, antibiotics

## PENDAHULUAN

*Escherichia coli* pada ayam pada umumnya dikenal sebagai bakteri normal di dalam saluran pencernaan. Patogenesis bakteri ini pada ayam seringkali dikaitkan sebagai infeksi sekunder yang memperburuk kondisi inang setelah adanya infeksi primer oleh agen penyakit lain. Pemakaian obat terutama antibiotika melalui makanan, minuman, maupun parenteral secara intensif bahkan cenderung tidak sesuai anjuran secara tidak disadari dapat mengakibatkan peningkatan resistensi bakteri. Akibatnya kasus kolibasilosis hampir selalu terjadi pada periode pemeliharaan dan tidak dapat diatasi dengan obat-obat yang ada sehingga pada akhirnya menimbulkan kerugian ekonomi.

Penampilan fenotip *Escherichia coli* patogen pada ayam dapat dikenali dengan menggunakan media *congo red*. Bakteri yang bereaksi positif terhadap *congo red* (CR+) ini ternyata menimbulkan kematian embrio ayam umur 12 hari dengan tingkat kematian yang berbeda-beda (Nugroho, *et al.*, 2001). Penanganan kasus kolibasilosis umumnya menggunakan antibiotika. Penggunaan dosis antibiotika yang kurang tepat dan pemakaian yang terlalu sering akan menimbulkan suatu keadaan yang disebut resistensi (Brander *et al.*, 1991; Bogaard, *et al.* 2001). Menurut Black (1999), resistensi adalah suatu keadaan berkurangnya pengaruh obat anti infeksi terhadap bakteri atau secara alamiah bakteri tidak sensitif oleh perlakuan antibiotika. Gan (1983) mendefinisikan, resistensi merupakan kegagalan pengobatan dengan suatu antibiotika dengan dosis terapi. Terdapat tiga tipe resistensi yang diketahui yaitu resistensi non genetik, resistensi genetik dan resistensi silang. Resistensi non genetik terdapat pada mikroba dalam keadaan inaktif atau istirahat, resistensi genetik merupakan mutasi spontan karena terjadi tanpa dipengaruhi keberadaan anti mikroba tersebut. Pada resistensi silang sifat resistensi mikroba terhadap suatu mikroba tertentu juga memperlihatkan sifat resistensi terhadap mikroba yang lain, biasanya antara antimikroba dengan struktur yang hampir sama (Gan, 1983, Brander *et al.*, 1991). Bakteri dapat menjadi resisten terhadap agen antibakterial oleh karena mengikuti satu atau lebih mekanisme dari mutasi, transformasi, transduksi maupun konjugasi (Goodman dan Gilman, 1970, Timoney *et al.*, 1991). Mekanisme resistensi oleh Brander *et al.* (1991) dan Prescott (2000), dijelaskan dapat melalui berbagai cara antara lain penginaktifan obat, perubahan target atau struktur enzim, penurunan akumulasi obat oleh sel, adanya variasi jalur metabolik maupun peningkatan konsentrasi metabolik.

## Materi dan Metode

Delapan isolat bakteri *E.coli* positif *congo red* yang diisolasi dari kasus kolibasilosis ayam dari lapangan. Kaldu *brain heart infusion* (BHI), agar *congo red*, agar *mueller-Hinton* (MHA), disk antibiotika ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin

Uji sensitivitas bakteri *E. coli* yang bereaksi positif pada media *congo red* dikerjakan menurut metode Kirby-Bauer. Biak murni bakteri termaksud ditanam menggunakan *cotton swab* secara merata pada permukaan media MHA. Disk antibiotika ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin diposisikan menggunakan *dropper* pada permukaan kultur bakteri tersebut, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona terang disekililing disk antibiotik yang terbentuk setelah inkubasi, diukur dengan penggaris ukuran mm, kemudian besarnya zona hambatan pertumbuhan bakteri tersebut dibandingkan dengan referensi untuk menentukan resisten tidaknya isolat bakteri tersebut. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif.

## Hasil dan Diskusi

Isolat bakteri *E.coli* yang menjadi orientasi penelitian ini merupakan isolat ayam yang patogen menurut Berhoff dan Vinal (1986) dan dikonfirmasi oleh Nugroho, *et al.*, (2001) yaitu bakteri *E.coli* yang mampu mengikat zat warna merah kongo. Karakter penotip pengikatan zat warna tersebut diduga sebagai faktor virulensi yang baru dari bakteri *E.coli*, atau setidaknya erat kaitannya dengan faktor virulensi. Dikatakan baru karena fenomena perubahan karakter ini belum diketahui dengan pasti, diduga erat kaitannya dengan keberadaan beta-D-glukan pada dinding sel bakteri. Lebih lanjut Berhoff dan Vinal (1986) menjelaskan bakteri *E.coli* yang mampu mengikat zat warna merah kongo tersebut terbukti virulen pada mencit dan anak ayam. Menurut Unlich *et al.*, (2002) beberapa strain *E.coli* mampu menghasilkan suatu lapisan tipis yang merupakan agregat fimbria yang dapat mengikat zat warna merah kongo yang pada umumnya dimiliki oleh bakteri *E.coli* yang mempunyai kemampuan sepsis. Lebih lanjut Malletta *et al.*, (2003) menjelaskan bahwa *E.coli* yang mampu menyebabkan penyakit di luar saluran pencernaan dan infeksi meluas disebut sebagai *avian pathogenic escherichia coli* (APEC).

Bakteri *E.coli* dengan karakter penotip tersebut di atas diuji sensitivitasnya terhadap antibiotika ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin. Antibiotika terpilih dalam uji tersebut pada dasarnya merupakan antibiotika yang sudah sangat umum digunakan di dalam industri

peternakan unggas di Indonesia. Hasil uji sensitivitas *E.coli* patogen isolat ayam terlihat pada Tabel 1.

Preparat enrofloksasin secara umum juga tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*, atau

Tabel 1. Hasil uji sensitifitas 8 bakteri *E.coli* isolat asal ayam, yang bereaksi positif pada media congo red terhadap preparat antibiotika.

Isolat	Zona Hambatan Antibiotika (mm)		
	Ampisilin	Streptomisin	Enrofloksasin
Kasongan	0	0	0
Wonosari	0	0	0
Sedayu	0	0	0
Magelang	0	0	0
Rosa	0	0	21,1 (R)
Sewon	0	0	0
Semarang	0	0	0
Kalasan	0	11,5 (R)	0
Presentase Resistensi ke-8 Isolat yang diuji	100%	100%%	100%

Keterangan : (S) sensitif, (I) intermediate, (R) resisten

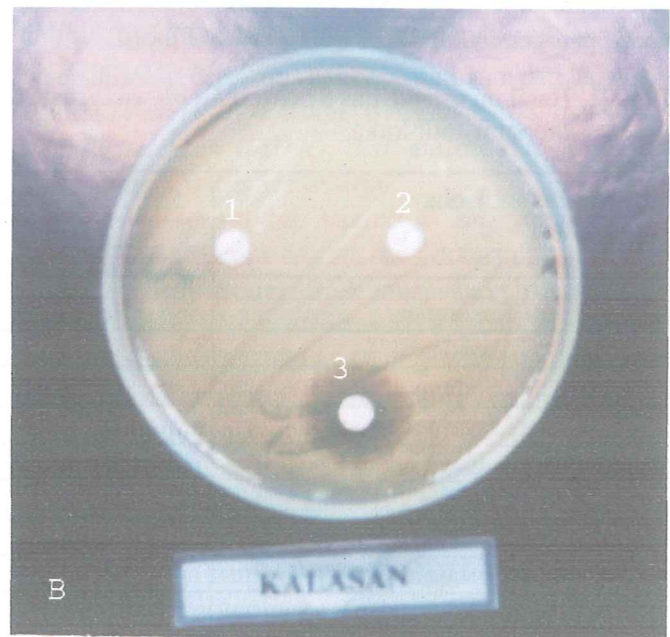
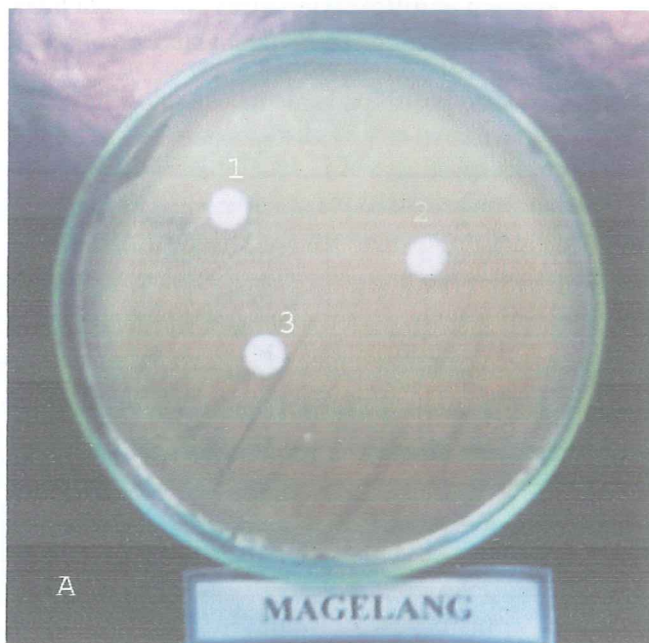
Secara umum bakteri *E.coli* tersebut menunjukkan sifat resistensi terhadap prerapat ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin. Menurut Anonim (1980), bakteri *E. coli* dikatakan sensitif terhadap preparat ampisilin jika memiliki diameter zona hambatan  $\geq 17$  mm, intermediate jika mampu membentuk zona hambatan 12-14 mm dan dikatakan resisten jika zona yang terbentuk  $\leq 12$  mm. Data yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan ke-8 isolat bakteri *E.coli* tersebut resisten terhadap ampisilin. Resistensi tersebut diketahui karena antibiotika ampisilin tidak mampu menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga zona hambatan di sekitar piringan (disk) antibiotika tidak terbentuk (nol), atau zona hambatan yang terbentuk di bawah batasan resisten.

Hasil uji sensitivitas bakteri *E.coli* terhadap preparat streptomisin teramati hanya satu isolat, yaitu: isolat Kalasan yang pertumbuhannya dihambat oleh antibiotik streptomisin dengan diameter zona hambatan sebesar 11,5 mm, namun demikian zona hambatan tersebut termasuk dalam kategori resisten (Gambar 1). Tujuh isolat bakteri *E. coli* lainnya tidak teramati adanya zona hambatan oleh antibiotik streptomisin (Tabel 1). Menurut Anonim (1980), bakteri dikatakan sensitif bilamana streptomisin mampu menghasilkan diameter zona hambatan  $\geq 15$  mm, dikatakan intermediate apabila zona hambatan yang terbentuk antara 12-14 mm dan resisten jika zona hambatan kurang dari 12 mm.

zona hambatannya nol, namun demikian satu isolat dari 8 isolat yang diuji teramati adanya zona hambatan dengan diameter sebesar 21,2 mm, sebagaimana terlihat pada tabel 1. Zona hambatan tersebut menurut Odland *et al.*, (2000) termasuk resisten. Lebih lanjut dijelaskan bahwa zona hambatan sensitif yang dihasilkan preparat enrofloksasin terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* mempunyai diameter 32-40 mm.

Hasil uji sensitivitas ke- 8 isolat bakteri *E. coli* terhadap ketiga jenis antibiotika tersebut di atas bila dipresentase tingkat resistensinya maka dapat dilihat bahwa resistensi bakteri *E.coli* terhadap ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin adalah 100%. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Bogaard *et al.* (2001) bahwa kepekaan antibiotika terhadap *E.coli* patogen isolat asal unggas menunjukkan resistensi terhadap 5 macam atau lebih antibiotika, antara lain: resisten terhadap preparat amoksisilin dan preparat kombinasi. Resistensi tersebut terutama teramati pada isolat asal ayam broiler dan kalkun, sedangkan resistensi terhadap streptomisin banyak diamati pada ayam petelur. Menurut Ojeniyi yang disitasi Bogaard *et al.* (2001) bahwa sebanyak 3444 isolat *E.coli* yang diisolasi dari kandang baterai, diketahui menunjukkan adanya multiresistensi. Peneliti lain meyakini beberapa strain *E. coli* yang diisolasi dari unggas di Iran, menunjukkan sifat resistensi ganda terhadap preparat ampisilin, streptomisin dan sulfonamid (Tabatabaei dan Nasirian,

Tanya ke P.wid -  
Hasil erit-nya masih tdk



Gambar 1 : Hasil uji sensitivitas bakteri *E.coli* yang bereaksi positif pada media *congo red* terhadap beberapa antibiotika  
Keterangan : A. *E.coli* Isolat Magelang, B. *E. coli* isolat Kalasan : 1. Preparat Ampisilin 2. Preparat Enrofloksasin, 3. Preparat Streptomisin

2003). Lebih lanjut dijelaskan beberapa studi sebelumnya yang mengkaji sifat resistensi bakteri *E. coli* yang diisolasi dari feses unggas menunjukkan 86,5 % isolat tersebut mempunyai sifat resistensi ganda. Hal ini diduga erat kaitannya dengan pemakaian obat dosis subterapi maupun dosis terapi yang diberikan pada unggas tersebut melalui pakan dan minum (Tabatabaei dan Nasirian, 2003).

Di negara Eropa resistensi terhadap preparat quinolon muncul pada bakteri *Camphylobacter jejuni* yang diisolasi dari ayam dan tampaknya merupakan sumber infeksi utama pada manusia. Resistensi *E.coli* terhadap siprofloksasin pada kalkun dan broiler menurut Bogaard *et al.* (2001) berturut turut mencapai 45 % dan 50 %, sedangkan di Belanda telah diketahui kurang lebih 10 % *E. coli* isolat asal ayam menunjukkan resistensi terhadap siprofloksasin dan 35 % menunjukkan resistensi terhadap flumequin. Studi yang dikerjakan oleh Tabatabaei dan Nasirian (2003) di Iran yang mempelajari sifat resistensi bakteri *E. coli* terhadap beberapa antibiotika, terutama preparat enrofloksasin dan flumequin, ternyata menunjukkan sifat resistensi yang cukup tinggi yaitu 44 % dan 56 %. Bogaard *et al.*, (2001) memberikan analisis bahwa tingginya angka resistensi bakteri *E.coli* terhadap antibiotika golongan quinolon tersebut karena pemakaian antibiotika tersebut dengan frekuensi yang tinggi pada unggas. Penggunaan flumequin

dan enrofloksasin mencapai 14 % dari antibiotika yang digunakan di industri perunggasan. Se jauh ini diketahui bahwa enrofloksasin merupakan methylester siprofloksasin dan keduanya dapat terjadi resistensi silang secara total. Menurut Prescott (2000), florokuinolon merupakan antibiotik baru yang penting pada dekade ini, namun pada kenyataannya sifat resistensi antibiotik tersebut cepat sekali teramati

## KESIMPULAN

Menurut data-data yang diperoleh dalam penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa bakteri *E.coli* yang bereaksi positif pada media merah kongo secara umum menunjukkan resistensi terhadap antibiotika ampisilin, streptomisin, dan enrofloksasin. Presentase resistensi terhadap preparat ampisilin, streptomisin dan enrofloksasin tersebut sebesar 100 %.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat Direktorat Jendral Perguruan Tinggi, Departemen pendidikan Nasional, telah mendanai penelitian ini melalui Penelitian Dasar tahun 2004.

### DAFTAR PUSTAKA

Anonim (1980). A Diagnostic Manual of Veterinary Clinical Bacteriology and Mycology, Unesco/Cida, Regional Training Course in Veterinary Diagnostic Mycobiology Deradeniya, p. 72.

Berhoff, H.A. and Vinal 1986. Congo Red Medium to Distinguish Invasive and Non-Invasive *E.coli* Pathogenesis for Poultry, *Avian Dis.* 30:117-121

Bogaard, A.E.; London N., Driessen C. and. Stobberingh E.E (2001). Antibiotic Resistance of Faecal *Escherichia coli* in Poultry, Poultry farmer and Poultry Slaughterers, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 47:761-771

Brander, G.C., Pugh D.M., Baywater R.J., and Jenkins W.L., 1991, Veterinary Applied Pharmacology and Therapeutics 5<sup>th</sup> ed. The English Book Society and Bailliere Tindal. London. Pp. 416-450

Black, J.G., 1999. Microbiology Principle and Exploration, John Wiley and Sons. Inc. New York. Pp: 208 - 209

Gan, V.H.S., 1983, Antimikrobia dalam Sulistia Gan (Ed) Farmakologi dan Terapi, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta, hal. 443-449

Goodman, L.S. and A. Gilman, 1970, The Pharmacological Basic of Therapeutic, 4<sup>th</sup> ed., The Macmillan Company, London, pp. 1171-1215

Maletta, M., Moulin, M. D. and Fairbrother, C. M., 2003. Role of Avian Pathogenic *E. coli* Virulence Factors in Bacterial Infection with Chicken Heterophils and Macrophages. *Infection and Immunity.* Vol. 71 (1) : 494-503.

Prescott, J.F. 2000. Antimicrobial Drug Resistance and Its Epidemiology, in: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, Prescott, J.F.; J.D. Baggot, R.D. Waljer (eds) 3<sup>th</sup> ed., Iowa State University Press/Amess, Pp. 27-49.

Tabatabaei, R.R. dan Nasirian, A., 2003. Isolation, Identification and Antimicrobial Resistance Pattern of *E. coli* Isolated from Chicken Flocks. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics. <http://www.iums.ac.ir/publications/ijpt/v2n2/Tabatabaei.htm>.

Timoney, J.F., Gillespie J.H., Scott, F.W., and Barlough, J.E., 1991, Hagan and Bruner's microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. 8<sup>th</sup> ed. Comstock Publishing Associates A Division Cornell University Press, Ithaca and London, Pp. 24-30.

Mk. (2001)

~~Neurolept? (2002) & Ceb.~~

Hulich. et al. (2002)

Variation in The CsqD Promoter of *E. coli* O157:H7 Associated with Increased Virulence in mice & Increase Invasion of Hep-2 cells.

Journal of Infection and Immunity Vol. 70 No. 1. 395-399

Odland. et al. 2000.

Quality Control Guidelines for Disk Diffusion and Broth Microdilution Antimicrobial Sensitivity Test with Seven Drugs for Vet. Application

Journal of Clinical Microbiology Vol. 38. No 1. 453-457