

Prevalensi Strain *Avian Pathogenic Escherichia coli* (APEC) Penyebab Kolibasilosis pada Burung Puyuh

Prevalence of Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC) Strains Causes Colibacillosis in Quail

Wahyu Prihtiyantoro^{1*}, Khusnan¹, Mitra Slipranata² dan Imron Rosyad²

¹ Akademi Peternakan Brahmputra, Jl. Ki Ageng Pemanahan, Nitikan, Sorosutan, Umbulharjo Yogyakarta

² Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada, Jl. Fauna 2, Karangmalang,
Yogyakarta 55281

*E-mail: wahyumatra@gmail.com

Naskah diterima : 23 Januari 2019, direvisi : 10 Mei 2019, disetujui : 24 Mei 2019

Abstract

Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC) is a pathogen that causes colibacillosis in poultry, including salpingitis, omphalitis, cellulitis, swollen head syndrome, coligranuloma yolk sac inflammation, and air sacs inflammation. APEC is a zoonotic strain which spread through raw meat and processed meat products of animals and birds. In this research, the isolation and identification of *Escherichia coli* were done by using selective media MacConkey, Kligger Iron Agar, and Gram staining. Polymerase chain reaction (PCR) was used to analyse genotopically to detect 16SrRNA genes, vt1 genes, and vt2 genes. Thirty one (55,36%) isolates of 56 specimens collected from quail were detected as *Escherichia coli*. The detection of APEC strains towards 31 *Escherichia coli* isolates were done by using polymerase chain reaction (PCR) with vt1 and vt2 specific primer. The results showed that 32,26% (10/31) was APEC strains and 67.74% was non-APEC strains. From 10 isolates, 90% had vt1 gene and 10% had vt2 gene. *Escherichia coli* isolates were found in eyes (32,26%), infraorbital sinus fluid (32,26%), nasal fluid (16,20%), also in lungs, air sacs, ascites, and heart for 3,2% each. The isolates could not be found in the specimens from the skull. As a zoonotic agent, the isolates have an impact on human health.

Keywords: APEC; colibacillosis; quail; vt1; vt2

Abstrak

Avian Pathogenic Escherichia coli (APEC) merupakan patogen sebagai penyebab kolibasilosis pada unggas, diantaranya menyebabkan salpingitis, omfalitis, selulitis, sindrom kepala bengkak, koligranuloma radang *yolk sac* serta radang kantung udara. APEC merupakan strain zoonosis yang disebarkan melalui daging dan produk daging olahan dari hewan dan unggas. Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi *Escherichia coli* menggunakan media selektif MacConkey, Kligger Iron Agar dan pewarnaan Gram. *Polymerase chain reaction* (PCR) digunakan untuk penilaian genotipik untuk mendeteksi adanya gen 16SrRNA dan gen vt1 serta vt2. Dari 56 sampel spesimen burung puyuh, 31 (55,36%) isolat terdeteksi sebagai *Escherichia coli*. Deteksi strain APEC terhadap 31 isolat *Escherichia coli* digunakan *polymerase chain reaction* (PCR) menggunakan gen vt1 dan gen vt2 primer spesifik menunjukkan 32,26% (10/31) sebagai strain APEC dan 67,74% non APEC. Distribusi gen vt1 dan vt2 dari 10 isolat terdiri dari 90% memiliki gen vt1 dan 10% memiliki gen vt2. Isolat *Escherichia coli* yang berasal dari mata sebesar 32,26% (11/31), dari cairan sinus *infraorbitalis* 32,26% (11/31), cairan hidung 16,2% (5/31), paru, kantung hawa, cairan asites dan jantung masing-masing 3,2% (1/31), serta tidak ditemukan pada spesimen yang berasal dari tulang tengkorak. Sebagai agen zoonosis, isolat memiliki dampak penting pada kesehatan manusia.

Kata Kunci: APEC; kolibasilosis; puyuh; vt1; vt2

Pendahuluan

Escherichia coli merupakan bakteri penyebab kolibasilosis pada unggas (Roy *et al.*, 2004; Akbar *et*

al., 2009; Antao *et al.*, 2008). Strain APEC (*Avian Pathogenic Escherichia coli* (APEC) menyebabkan kolibasilosis pada ayam, kalkun, dan unggas lainnya

(Ramirez *et al.* 2009), seperti burung puyuh (Roy *et al.* 2006). Strain APEC menyebabkan penyakit primer maupun sekunder pada ayam dan bangsa unggas lain (Antao *et al.*, 2008), yang bersifat sistemik dan menimbulkan bakteremia (Suryani *et al.*, 2014).

Kolibasilosis pada unggas menyebabkan kerugian ekonomi karena menurunnya produksi, menyebabkan kematian dan bertambahnya biaya pengobatan (Barnes *et al.*, 1997; Bilge *et al.*, 1989; Nakazato *et al.*, 2009; Di'az-Sa'nchez *et al.*, 2012; Sarah *et al.*, 2015). Pada unggas kolibasilosis ditandai dengan perikarditis, *air sacculitis* dan perihepatitis (Calnek *et al.*, 1997), salpingitis, omfalitis, selulitis, sindroma kepala bengkak, koligranuloma radang *yolk sac* serta *air sacculitis* (McPeake *et al.*, 2005; Hamad *et al.*, 2012). Menurut Barnes *et al.* (2003) kolibasilosis pada unggas menyebabkan meningitis, *panophthalmitis* (mata bengkak), osteoarthritis, sinusitis dan koligranuloma yang ditandai dengan beberapa granuloma di hati, sekum, duodenum dan mesenterium.

Pada burung puyuh kolibasilosis sering berhubungan pada sistem pencernaan, pernafasan serta infeksi pada organ dan jaringan lainnya (Kabir, 2010). Kolibasilosis menyebabkan perubahan pada paru, hati, limpa, usus, ginjal dan jantung (Akbar *et al.*, 2009). Kolibasilosis pada burung puyuh menurut Ito *et al.* (1990) menyebabkan hepatitis dan perikarditis. Koliseptisemia pada unggas ditemukan perikarditis, hepatitis, folikulitis, pembesaran limpa dan peritonitis (Oh *et al.*, 2011). Menurut Saif *et al.* (2008) burung puyuh yang dibudidayakan rentan terhadap kolibasilosis. Pada penelitian ini dilakukan isolasi *Escherichia coli* yang berasal dari berbagai spesimen dari burung puyuh petelur dan deteksi strain APEC secara genotip.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan 56 spesimen yang

berasal dari kasus kolibasilosis pada burung puyuh petelur (Tabel 1). Identifikasi *Escherichia coli* didasarkan pada karakter koloni pada media MacConkey, Kligger Iron Agar dan karakterisasi morfologi menggunakan pewarnaan Gram. Spesimen-spesimen ditanam pada media THB 24 jam pada 37°C. Bakteri ditanamkan dari THB pada media MacConkey (Oxoid) dan diinkubasi selama 24 jam pada 37°C seperti yang dilakukan Zinnah *et al.* (2007); Mohamed *et al.* (2014) dan Abd El Tawab (2015). Koloni yang diduga *Escherichia coli* dari media MacConkey ditanam pada media KIA (Kligger Iron Agar) seperti yang dilakukan Carson *et al.* (2001) dan Afroz *et al.* (2013). Pewarnaan Gram dikerjakan seperti yang dilakukan Lowy (2009).

Seluruh isolat dilakukan ekstraksi *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang dilanjutkan dengan PCR untuk amplifikasi gen 16SrRNA, amplifikasi gen *vt1* dan *vt2*. Ekstraksi DNA digunakan kit ekstraksi DNA (Dneasy Qiagen) dengan prosedur sesuai dengan rekomendasi pabrik. Primer selektif untuk mengamplifikasi gen 16SrRNA *E. coli* digunakan primer yang didesain berdasarkan Knobl *et al.* (2004).

Amplifikasi gen 16SrRNA spesifik *E. coli* menggunakan primer ECP79F dan ECR620R dilakukan dengan mencampur larutan PCR mix (Supermix, Invitrogen, Germany) dengan 2,5 µl (0,6 µM) masing-masing primer dan 2 µl DNA ke dalam tabung PCR hingga mencapai volume total 25 µl, selanjutnya tabung yang telah berisi larutan dimasukkan ke dalam alat *thermal cycle* (Mastercycler, Eppendorf, Germany).

Urutan basa nukleotida dari primer dan program PCR disajikan pada Tabel 1. Campuran reaksi terdiri atas 2,5 µl masing-masing primer I dan primer II, 1 µg DNA dan PCR mix sampai volume 25 µl. Program PCR untuk amplifikasi gen 16SrRNA *E. coli* setelah denaturasi awal lima menit pada

temperatur 94°C, fragmen gen target diamplifikasi dalam 40x siklus. Masing-masing siklus dengan program denaturasi selama 45 detik pada suhu 94° C, *annealing* 45 detik pada suhu 50° C dan ekstensi selama 1,5 menit pada suhu 72° C (Knobl *et al.*, 2004).

Produk PCR dianalisis dengan menggunakan elektroforesis dalam 2% gel agarosa (Sigma), dan bufer (TAE) (0,04 M Tris; 0,001 M EDTA; pH 7,8). Sebanyak 10µl produk PCR dicampur dengan ±3µl *loading buffer*, pada tegangan 100 V selama 30 menit. Setelah elektroforesis pita-pita DNA pada agar diwarnai dengan larutan *Sybr save staining* dan divisualisasikan menggunakan UV *transilluminator*.

Kolibasilosis pada unggas menyebabkan kerugian ekonomi karena menurunnya produksi, menyebabkan kematian dan bertambahnya biaya pengobatan (Barnes *et al.*, 1997; Bilge *et al.*, 1989; Nakazato *et al.*, 2009; Di'az-Sa'nchez *et al.*, 2012; Sarah *et al.*, 2015). Pada unggas kolibasilosis ditandai dengan perikarditis, *air sacculitis* dan perihepatitis (Calnek *et al.*, 1997), salpingitis, omfalitis, selulitis, sindroma kepala bengkak, koligranuloma radang *yolk sac* serta *air sacculitis* (McPeake *et al.*, 2005; Hamad *et al.*, 2012). Menurut Barnes *et al.* (2003) kolibasilosis pada unggas menyebabkan meningitis, *panophthalmitis* (mata bengkak), osteoarthritis, sinusitis dan koligranuloma yang ditandai dengan beberapa granuloma di hati, sekum, duodenum dan mesenterium.

Pada burung puyuh kolibasilosis sering berhubungan pada sistem pencernaan, pernafasan serta infeksi pada organ dan jaringan lainnya (Kabir, 2010). Kolibasilosis menyebabkan perubahan pada paru, hati, limpa, usus, ginjal dan jantung (Akbar *et al.*, 2009). Kolibasilosis pada burung puyuh menurut Ito *et al.* (1990) menyebabkan hepatitis dan perikarditis. Koliseptisemia pada unggas ditemukan perikarditis, hepatitis, folikulitis, pembesaran limpa dan peritonitis

(Oh *et al.*, 2011). Menurut Saif *et al.* (2008) burung puyuh yang dibudidayakan rentan terhadap kolibasilosis. Pada penelitian ini dilakukan isolasi *Escherichia coli* yang berasal dari berbagai spesimen dari burung puyuh petelur dan deteksi strain APEC secara genotip.

Materi dan Metode

Penelitian ini menggunakan 56 spesimen yang berasal dari kasus kolibasilosis pada burung puyuh petelur (Tabel 1). Identifikasi *Escherichia coli* didasarkan pada karakter koloni pada media MacConkey, Kligger Iron Agar dan karakterisasi morfologi menggunakan pewarnaan Gram. Spesimen-spesimen ditanam pada media THB 24 jam pada 37°C. Bakteri ditanamkan dari THB pada media MacConkey (Oxoid) dan diinkubasi selama 24 jam pada 37°C seperti yang dilakukan Zinnah *et al.* (2007); Mohamed *et al.* (2014) dan Abd El Tawab (2015). Koloni yang diduga *Escherichia coli* dari media MacConkey ditanam pada media KIA (Kligger Iron Agar) seperti yang dilakukan Carson *et al.* (2001) dan Afroz *et al.* (2013). Pewarnaan Gram dikerjakan seperti yang dilakukan Lowy (2009).

Seluruh isolat dilakukan ekstraksi *deoxyribonucleic acid* (DNA) yang dilanjutkan dengan PCR untuk amplifikasi gen 16SrRNA, amplifikasi gen *vt1* dan *vt2*. Ekstraksi DNA digunakan kit ekstraksi DNA (Dneasy Qiagen) dengan prosedur sesuai dengan rekomendasi pabrik. Primer selektif untuk mengamplifikasi gen 16SrRNA *E. coli* digunakan primer yang didesain berdasarkan Knobl *et al.* (2004).

Amplifikasi gen 16SrRNA spesifik *E. coli* menggunakan primer ECP79F dan ECR620R dilakukan dengan mencampur larutan PCR mix (Supermix, Invitrogen, Germany) dengan 2,5 µl (0,6 µM) masing-masing primer dan 2 µl DNA ke dalam

tabung PCR hingga mencapai volume total 25 µl, selanjutnya tabung yang telah berisi larutan dimasukkan ke dalam alat *thermal cycle* (Mastercycler, Eppendorf, Germany).

Urutan basa nukleotida dari primer dan program PCR disajikan pada Tabel 1. Campuran reaksi terdiri atas 2,5 µl masing-masing primer I dan primer II, 1 µg DNA dan PCR mix sampai volume 25 µl. Program PCR untuk amplifikasi gen 16SrRNA *E. coli* setelah denaturasi awal lima menit pada temperatur 94°C, fragmen gen target diamplifikasi dalam 40x siklus. Masing-masing siklus dengan

program denaturasi selama 45 detik pada suhu 94° C, *annealing* 45 detik pada suhu 50° C dan ekstensi selama 1,5 menit pada suhu 72° C (Knobl *et al.*, 2004).

Produk PCR dianalisis dengan menggunakan elektroforesis dalam 2% gel agarosa (Sigma), dan bufer (TAE) (0,04 M Tris; 0,001 M EDTA; pH 7,8). Sebanyak 10µl produk PCR dicampur dengan ±3µl *loading buffer*, pada tegangan 100 V selama 30 menit. Setelah elektroforesis pita-pita DNA pada agar diwarnai dengan larutan *Sybr save staining* dan divisualisasikan menggunakan UV *transilluminator*.

Tabel 1. *Polymerase chain reaction* (PCR) primer untuk amplifikasi gen 16SrRNA, *vt1* dan *vt2*

No	Gen	Primer Sekuen (5'-3')	Ukiran (bp) Produk PCR
1	16S rRNA	5'-GAAGCTTGCTTCTTTGCT-3' 5'-GAGCCCGGGGATTTACAT-3'	544bp Knobl, <i>et al.</i> (2004).
2	<i>vt1</i>	5'-CAGTTAATGTGGTGGCGAAG-3' 5'-CTGCTAATAGTTCTGCGCATC-3'	130bp Bottero <i>et al.</i> (2004)
3	<i>vt2</i>	5'-CTTCGGTATCCTATTCCTGG-3' 5'GGATGCATCTCTGGTCATTG-3'	346bp <u>Bottero</u> <i>et al.</i> (2004)

Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian ini dari 56 spesimen yang berasal dari jaringan dan organ burung puyuh sakit (Tabel 2) diperoleh 55,36% (31/56) isolat terdeteksi sebagai *Escherichia coli* dan 32,26% (10/31) isolat terdeteksi sebagai strain APEC. Identifikasi *Escherichia coli* berdasarkan karakter pada media MacConkey, Kligger Iron Agar (KIA) dan pewarnaan Gram, seperti terlihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Karakter *Escherichia coli* pada media MacConkey akan tumbuh koloni berwarna merah muda dan terang (Zinnah *et al.*, 2007; Mohamed *et al.*, 2014 dan Abd El Tawab *et al.*, 2015), pada media KIA *Escherichia coli* akan tumbuh dan mengubah warna media miring dan tegak dari merah menjadi kuning, tidak membetuk H₂S dan terbentuk gas (Anonimus, 2016; Carson *et al.*, 2001; Afroz *et al.*, 2013). Pada pewarnaan Gram morfologi *Escherichia coli* berwarna merah muda, berbentuk batang kecil serta

masuk dalam golongan Gram-negatif.

Pada penelitian ini prevalensi kolibasilosis pada burung puyuh petelur sebesar 55,36% (31/56) dan prevalensi APEC sebesar 32,26%. Prevalensi ini mirip dengan hasil penelitian Roy *et al.* (2006), kolibasilosis pada burung puyuh sebesar 54,5%. Hamad *et al.*, (2012) melaporkan prevalensi kolibasilosis pada burung puyuh sebesar 18,2%.

Prevalensi kolibasilosis pada burung puyuh lebih kecil dibandingkan dengan kolibasilosis pada broiler. Beberapa hasil penelitian menunjukkan kolibasiosis pada broiler sebesar 85% (Sepehrie dan Zadeh, 2006), 81,67% Rehman *et al.* (2014), 81,67% (Mamun *et al.*, 2016), 70,16% (Elsayed *et al.* 2015), 58% (Mitra *et al.*, 2004), 78,86% (Jakaria *et al.*, 2012). Beberapa peneliti melaporkan prevalensi kolibasilosis pada broiler lebih rendah dibandingkan hasil penelitian ini, yaitu sebesar 52% (Roy *et al.*, 2012) dan 18,2% (Hammad *et al.*, 2012).

Tabel 2. Jenis spesimen dan hasil identifikasi *Escherichia coli* dan deteksi gen *vt1* dan *vt2*

No.	Spesimen	Jumlah Isolat				
		Asal	Jumlah	<i>Escherichia coli</i>	Strain APEC	
				<i>vt1</i>	<i>vt2</i>	
1	Mata kanan		12	8	2	-
2	Mata kiri		8	3	-	-
3	Cairan Sinus		17	11	2	-
4	Cairan Hidung		6	5	3	1
6	Paru		4	1	-	-
7	Kantung hawa		3	1	1	-
8	Cairan asites		3	1	-	-
9	Jantung		1	1	1	-
10	Subkepala		2	-	-	-
Jumlah			56	31	9	1
Persentase				55,36%	32,26%	

Kolibasilosis merupakan sindroma kompleks pada unggas yang mencakup berbagai macam penyakit seperti septikemia, selulitis, *airs acculitis*, perikarditis, dan sindroma kepala bengkak (Rodriguez-Siek *et al.*, 2005). Manifestasi klinis termasuk enteritis, artritis, omfalitis, koligranuloma, salpingitis, septikemia, *airsacculitis*, penyakit pernapasan kronis, sindrom kepala bengkak, peritonitis, *osteomyelitis*, sinovitis, selulitis, dan lain-lain (Mater *et al.*, 2011; Barbieri *et al.*, 2013). Pada penelitian ini 31 isolat *Escherichia coli* berasal dari mata sebesar 35,5% (11/31), cairan sinus infraorbitalis 35,5% (11/31), cairan hidung 16,2% (5/31), paru-paru, kantung hawa, cairan asites dan jantung masing-masing 3,2% (1/31), serta tidak ditemukan pada spesimen asal tulang tengkorak.

Strain APEC dilaporkan telah diisolasi dari koliseptisemia dan kasus selulitis pada burung puyuh Jepang (*Coturnix coturnix japonica*) (Arenas *et al.*, 1999; Roy *et al.*, 2006). APEC merupakan strain patogen sebagai penyebab kolibasilosis pada bangsa unggas (Kalin *et al.*, 2012; Hussein *et al.*, 2013). APEC sering menyebabkan kolibasilosis yang berhubungan dengan ekstraintestinal pada ayam, kalkun, dan burung

lainnya (Ramirez *et al.*, 2009; Salehi *et al.*, 2007; Soon-Gu *et al.*, 2008), serta pada burung puyuh (Arenas *et al.*, 1999; Salehi dan Ghanbarpour, 2010).

Hasil penelitian dengan menggunakan metode *polymerase chain reaction* (PCR) teridentifikasi 32,26% (10/31) sebagai strain APEC dan sisanya tidak terdeteksi sebagai strain APEC (Gambar 3). Pada strain APEC tersebut distribusi gen *vt1* sebesar 90% (9/10) dan gen *vt2* sebesar 10% (1/10). Isolat-isolat tersebut berasal dari spesimen usapan mata 20% (2/10), *sinus infraorbitalis* 20% (2/10), cairan hidung 30% (4/10), kantung hawa 10% (1/10) dan jantung 10% (1/10)

Strain APEC merupakan strain *Escherichia coli* yang memproduksi *verotoxins* (*vt*) atau *shigatoxins* (*stx*) (Manoj *et al.*, 2011; Nataro dan Kaper, 1998; Ludwig *et al.*, 2002). Verotoxins (*vt*) atau shigatoxins (*stx*) merupakan sitotoksin yang diproduksi oleh beberapa *Escherichia coli enteropathogenic*, dan telah ditemukan pada *Escherichia coli* isolat asal burung (Salehi *et al.*, 2007). Beberapa strain APEC hanya memiliki gen *vt1* (*stx1*) atau *vt2* (*air sacculitis*) saja, atau keduanya (Nataro dan Kaper, 1998). Strain yang hanya memiliki

Wahyu Prihtiyantoro, *et. al.*

vt2 (stx2) lebih patogen dibandingkan dengan strain yang memiliki *vt1 (stx1)* atau bahkan strain membawa kedua *vt1 (stx1)* dan *vt2 (stx2)* (Nataro dan Kaper, 1998; Ludwig *et al.*, 2002). Pada penelitian ini ditemukan satu isolat memiliki gen *vt2* yang berasal dari cairan hidung.

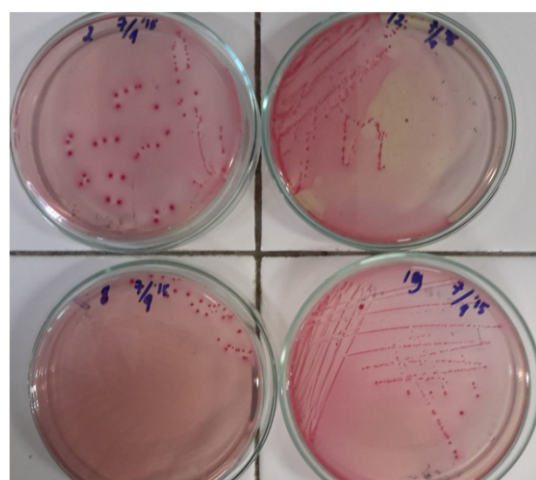
Prevalensi strain APEC pada hasil penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan laporan Hemmatinezhad *et al.* (2015), bahwa prevalensi strain APEC isolat burung puyuh sebesar 27,77%. Prevalensi APEC asal bangsa unggas dilaporkan bervariasi. Prevalensi strain APEC pada ayam petelur yang dilaporkan Soon-Gu *et al.* (2008) dan Hasan *et al.*, (2010) sebesar 31,3% dan 31,82%. Prevalensi APEC pada broiler dilaporkan Hasan *et al.* (2010) dan Radwan *et al.* (2014) sebesar 34% dan 41,5%. Prevalensi APEC isolat asal kalkun sebesar 11% (Emery *et al.*, 1992), burung unta sebesar 9,33%, dan pada kalkun 23,53% (Hemmatinezhad *et al.*, 2015).

Distribusi gen *vt1* isolat asal burung puyuh yang diteliti lebih banyak dibandingkan dengan isolat yang memiliki gen *vt2* yaitu 90% memiliki gen *vt1* dan 10% memiliki gen *vt2*. Moon *et al.* (2006) melaporkan prevalensi gen virulensi pada *Escherichia coli* isolat burung sebesar *stx1* (1,2%) dan *stx2* (6%). Salehi dan Ghanbarpour (2010) melaporkan isolat asal burung

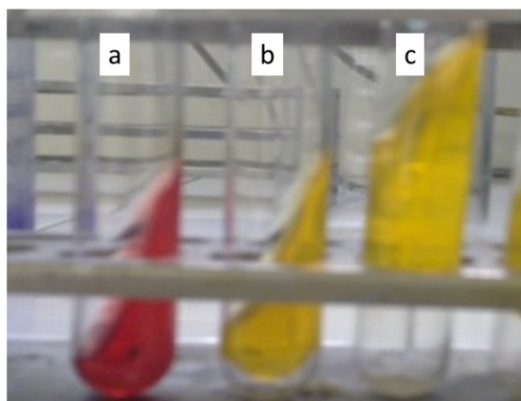
puyuh tidak memiliki gen *stx1* dan *stx2*.

Distribusi gen *stx1* dan *stx2* strain APEC isolat asal broiler dilaporkan oleh Mamun *et al.* (2016) sebesar 10,20% (5/49) dan 53,06% (26/49) serta 12,24% (6/49) isolat ditemukan positif untuk kedua *stx1* dan gen *stx2*, dan sisanya 22,46% (12/49) negatif. El-Hewairy *et al.* (2009) melaporkan distribusi *Escherichia coli* isolat sapi yang memiliki gen *vt1* dan *vt2* sebesar 54,02% dan 26,43%, isolat asal domba sebesar 21,42% dan 25%, isolat asal unta sebesar 1,7% dan 36,7% (El-Hewairy *et al.*, 2009). Jamshidi *et al.* (2016) melaporkan isolat asal broiler tidak memiliki gen *stx1* dan *stx2*.

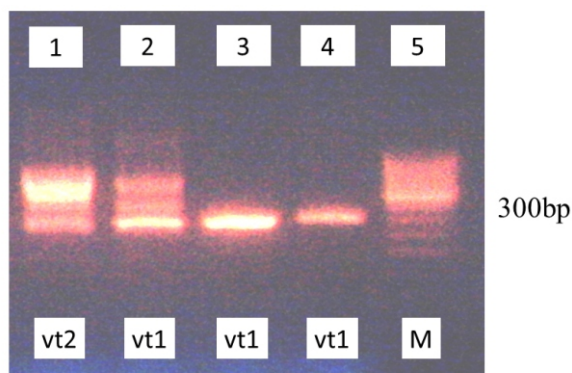
Isolat yang memproduksi verotoksin 1 dan verotoksin 2 dapat menyebabkan penyakit pada unggas dan manusia (Manoj *et al.*, 2011). APEC merupakan strain *Escherichia coli* yang bersifat zoonosis, pada manusia menyebabkan wabah kolitis hemoragi dan *hemolytic uremic syndrome (HUS)* (Law, 2000; Naylor *et al.*, 2005; Aidar-Ugrinovich *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2011) maupun meningitis neonatal (Alonso *et al.*, 2016). Ternak merupakan reservoir utama APEC (Dho-Moulin dan Fairbrother 1999). Menurut Radwan *et al.* (2014) unggas berperan sebagai reservoir APEC, dapat disebarkan melalui telur dan daging ayam maupun kalkun maupun unggas lain.



Gambar 1. Koloni bakteri yang diduga *E. coli* pada media MacConkey



Gambar 2. Kligger Iron Agar (KIA) (a). *E. coli* pada KIA merubah warna dari merah menjadi kuning dan terbentuk gas (b dan c).



Gambar 3. Gel elektroforesis hasil PCR gen vt1 dan vt2 pada *E. coli*. Lajur 5 (Marker), Lajur 1, 3, 4 dan 5 (vt1: 130bp). Lajur 2 (vt2: 346bp)

Kesimpulan

Strain APEC ditemukan pada kasus kolibasilosis burung puyuh petelur sebesar 32,26%, yang berasal dari mata, cairan sinus infraorbitalis, cairan hidung, paru, kantung hawa, cairan asites dan jantung. Ditemukan 90% mempunyai gen *vt1* dari mata, cairan sinus, paru, kantung hawa, cairan asites dan jantung, serta 10% *vt2* dari cairan hidung. Sebagai agen yang bersifat zoonosis, isolat-isolat ini dapat berdampak pada kesehatan manusia.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini merupakan bagian dari

Penelitian Fundamental yang dibiayai oleh DRPM Kemenristekdikti melalui Dana DIPA Kopertis Wilayah V Tahun Anggaran 2015-2016. Peneliti mengucapkan terima kasih atas pendanaannya dan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

Afroz H., Sultana F., Fakruddin M., Khan Z.U.M. and Datta S. (2013) Isolation of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* from Full Cream Powder Milk Sold Under Market Conditions at Dhaka, Bangladesh and Their Antibiotic Susceptibility. *J. Adv. Sci. Res.*

4(3):27-31.

- Aidar-Ugrinovich L., Blanco J., Blanco M., Blanco J.E., Leomil L., Dahbi G., Mora A., Onuma D.L., Silveira W.D. and de Castro P.A.F. (2007). Serotypes, virulence genes, and intimin types of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and enteropathogenic *E. coli* (EPEC) isolated from calves in Sao Paulo, Brazil. *Int. J. Food. Microbiol.* 115:297-306.
- Akbar H., Khan M., Khan A.A., Khan M.A., Shuaib M., Akbar S.F., Manzoor S., Irshad-urrehman S., Ahmad L., Ali R., Khalid R. and Idrees M. (2009) Comparative efficacy of doxycycline and flumequine against experimentally induced colibacillosis in broiler chicks. *J. of Vet. Med. and Anim. Health.* 1 (2):17-22.
- Alonso M.Z., Krüger A., Sanz M.E., Padola N.L. and Lucchesi P.M.A. (2016) Serotypes, virulence profiles and stx subtypes of Shigatoxigenic *Escherichia coli* isolated from chicken derived products. *Rev. Argent. Microbiol.* 48(4):325-328.
- Anonimus (2016) Instructions for use Kligger Iron Agar .
https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/Content/hugo/KliglerIronAgarKIA.htm
- Antao EM., Glodde S., Li G., Sharifi R., Homeier T. and Laturus C. (2008). The chicken as a natural model for extra intestinal infections caused by avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Microbiol. Pathol.* 45:361-369.
- Arenas A, Vicente S. and Luque I. (1999). Outbreak of septicaemic colibacillosis in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Zentralbl Veterinarmed B.* 46:399-404.
- Barbieri N.L., de Oliveira A.L., Tejkowski T.M., Pavanelo D.B., Rocha D.A., Matter L.B., Callegari-Jacques S.M., de Brito B.G., Horn F. (2013) Genotypes and pathogenicity of cellulitis isolates reveal traits that modulate APEC virulence.
- Barnes H.J., Vaillancourt J.P. and Gross W.B. (2003). *Newcastle disease*, p.631-656. In: Ibid. (Ed.), *Diseases of Poultry*. 11th ed. Iowa State University Press, Ames.
- Barnes H.J., Vaillancourt J.P. and Gross R.G. (1997). *Colibacillosis*. In: Y. M. Saif, H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L.R. MacDougall, and D. E. Swayne. *Diseases of Poultry*, 11th Ed. Iowa State University Press, Iowa, USA. 631-652.
- Bilge S.S., Clausen C.R., Lau W. and Moseley S.L. (1989) Molecular characterization of a fimbrial adhesin, F1845, mediating diffuse adherence of diarrhea-associated *Escherichia coli* to HEp-2 cells. *J. Bacteriol* 171:4281-4289.
- Bottero M.T., A. Dalmaso, D. Soglia, S. Rosati, L. Decastelli, and T. Civera. 2004. Development of a multiplex PCR assay for the identification of pathogenic genes of *Escherichia coli* in milk and milk products. *Mol. Cell. Probes.* 18(4):283-288.
- Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougall L.R. and Saif Y.M. (1997). *Diseases of Poultry*. 10th edition. Iowa State University Press, Ames, Iowa. 131-140.
- Carson C.A., Shear B.L., Ellersieck M.R. and Asfaw A. (2001) Identification of Fecal *Escherichia coli* from Humans and Animals by Ribotyping Appl. Environ. Microbiol. 67(4):1503-1507.
- Dho-Moulin M. and Fairbrother J.M. (1999). Avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Vet. Res.* 30:299-316.
- Di'az-Sa'nchez S., Sa'nchez S., Ewers C. and Hofle U. (2012). Occurrence of avian pathogenic *Escherichia coli* and antimicrobial-resistant *E. coli* in red-legged partridges (*Alectoris rufa*): sanitary concerns of farming. *Avian Pathol.* 41(4):337-344.
- El Tawab A.A., El Aal S.A.A., Mazied E.M. and Morsy D.A. (2015) Prevalence of *E. coli* in broiler chickens in winter and summer seasons by application of PCR with its antibiogram pattern. *Benha Vet. Med. J.* 29(2):119-128.
- El-Hewairy H.M., Awad W.S. and Ibrahim A.K. (2009) Serotyping and molecular characterization of *Escherichia coli* isolated from diarrheic and in-contact camel calves. *Egypt. J. Comp. Path. and Clinic. Path.* 22(1):216-233
- Elsayed M.E., Shabana I.I., Esawy A.M. and Rashed A.M. (2015) Detection of Virulence-

- Associated Genes of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) Isolated from Broilers. *J.J. Genetics*.1(1): 004. http://genetics.jacobspublishers.com/images/Genetics/J_J_Gene_1_1_004.pdf
- Emery D.A., Nagaraja K.V., Shaw D.P., Newman J.A. and White D.G. (1992) Virulence factors of *Escherichia coli* associated with colisepticemia in chickens and turkeys. *Avian Dis*. 36: 504-511.
- Hamad M.A., Al-Aalim A.M., Al-Dabbagh S.Y.A. and Ali H.H. (2012) Detection of organ bacterial load in quails. *Iraqi J of Vet Scie*. 26:47-51
- Hasan A.K.M.R., Ali M.H., Siddique M.P., Rahman M.M. and Islam M.A. (2010) Clinical and Laboratory Diagnoses of Common Bacterial Diseases of Broiler and Layer Chickens. *Bangl. J. Vet. Med*. 8(2):107-115.
- Hemmatinezhad B., Khamesipour F., Mohammadi M., Dehkordi F.S. and Mashak Z. (2015) Microbiological Investigation of O-Serogroups, Virulence Factors and Antimicrobial Resistance Properties of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolated from Ostrich, Turkey and Quail Meats. *J. of food savety*. doi: 10.1111/jfs.12199. 1-10
- Hussein A.H., Ghanem I.A., Eid A.A., Ali M.A., Sherwood J.S., Li G., Nolan, L.K. and Logue C.M. (2013) Molecular and phenotypic characterization of *Escherichia coli* isolated from broiler chicken flocks in Egypt. *Avian Dis.*, 57(3):602–611.
- Ito H., Skoda S., Kobayashi S., Sugiyama H. and Masanori N. (1990) Colibacillosis of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) occurring in Higashimikawa District. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc*. 43: 661–665.
- Jakaria A.T.M., Islam M.A. and Khatun M.M. (2012). Prevalence, characteristics and antibiogram profiles of *Escherichia coli* isolated from apparently healthy chickens in Mymensingh, Bangladesh. *Microbes and Health* 1: 27-29
- Kabir S.M.L. (2010) Avian Colibacillosis and Salmonellosis: A Closer Look at Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis, Control and Public Health Concerns. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 7:89-114.
- Kalin R., Ongor H. and Cetinkaya B. (2012) Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 from broiler and human samples. *Foodborne Pathog. Dis*. 9(4):313-318.
- Knöbl T., Tania A., Gomes, T., Vieira M.A.M., Jose A., Bottino J.A., Antonio J. and Ferreira P. (2004) Detection of pap, sfa, afa and fim adhesin-encoding operons in avian pathogenic *Escherichia coli*. *Intern J. Appl. Res. Vet. Med*. 2(2):135-141.
- Law D. (2000) Virulence factors of *Escherichia coli* O157 and other Shiga toxin-producing *E. coli*. *J. of Appl Microbiol*. 88:729-745.
- Lee K., French N.P., Hara-Kudo Y., Iyoda S., Kobayashi H., Sugita- Konishi Y., Tsubone H. and Kumagai S. (2011) Multivariate analyses revealed distinctive features differentiating human and cattle isolates of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 in Japan. *J. Clin. Microbiol*. 49: 1495-1500.
- Lowy F. (2009) Bacterial Classification, Structure and Function. <http://www.columbia.edu/itc/hs/medical/pathophys/id/2009/introNotes.pdf>
- Ludwig K., Sarkim V., Bitzan M., Karmali M.A., Bobrowski C. and Ruder H. (2002) Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* infection and antibodies against stx2 and stx1 in household contacts of children with enteropathic hemolytic-uremic syndrome. *J. Clin. Microbiol*. 40:12-17.
- Mamun M.M., Parvej M.S., Ahamed S., Hassan J., Nazir K.H.M.N.H., Nishikawa Y. and Rahman M.T. (2016) Prevalence And Characterization of Shigatoxigenic *Escherichia coli* in Broiler Birds in Mymensingh. *Bangl. J. Vet. Med*. 14(1):5-8.
- Manoj Kr. Saikia and Saikia D. (2011) PCR Detection of *stx1* and *stx2* Toxigenic Genes in Multiple. Antibiotic Resistant *Escherichia coli* Population and Phenotypic Detection of Esbl Producing *Escherichia coli*. Isolates from Local Variety of Poultry. *Int. J. of Appl. Biol. and Pharmaceut. Technol*. 3(2):593-602.
- Matter L.B., Barbieri N.L., Nordhoff M., Ewers C. and

- Horn F. (2011) Avian pathogenic *Escherichia coli* MT78 invades chicken fibroblasts *Vet. Microbiol.* 148:51-59.
- McPeake S.J.W., Smyth J.A. and Ball H.J. (2005) Characterisation of Avian Pathogenic *Escherichia coli* (APEC) associated with colisepticaemia compared to faecal isolates from healthy birds. *Vet. Microbiol.* 110: 245-253.
- Mitra M., Pramanik A.K., Bhattacharyya H.M., Basak D.K. and Chatterjee A. (2004) Spontaneous colibacillosis in infectious bursal disease-affected broiler flocks. *Trop. Anim. Health. Prod.* 36(7):627-632.
- Mohamed M.A., Shehata M.A. and Rafeek E. (2014) Virulence Genes Content and Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* from Broiler Chickens. *Vet. Med. Int.* Article ID 195189, 6 page <https://www.hindawi.com/journals/vmi/2014/195189>
- Monroy M.A., Knobl T., Bottino J.A., Ferreira C.S. and Ferreira A.J.P. (2005) Virulence characteristics of *Escherichia coli* isolates obtained from broilers breeders with salpingitis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 28:1-15.
- Moon B.M., Won G.Y., Choi Y.Y., Jin J.K., Oh I.G., Park J.H., Eo S.K. and Lee J.H. (2006) Isolation and characteristics of avian pathogenic *Escherichia coli* from birds associated with colibacillosis. *Proceedings of AZWMP 2006 Chulalongkorn Uni. Fac. of Vet. Sc., Bangkok, Thailand, 26-29 Oct 2006: 61*
- Nakazato G., Campos T.A., Stehling E.G., Brocchi M. and Da Silveira W.D. (2009) Virulence factors of avian pathogenic *Escherichia coli* (APEC). *Pesq. Vet. Bras.* 29:479-486.
- Nataro J.P. and Kaper J.B. (1998) Diarrheagenic 17. *Escherichia coli*. *Clin. Microbiol Rev.* 11:142-201.
- Naylor S.W., Gally D.L. and Low J.C. (2005) Enterohaemorrhagic *E. coli* in veterinary medicine. *Int. J. Med. Microbiol.* 295:419-441.
- Oh J.Y., Kang M.S., Kim J.M., An B.K., Song E.A., Kim J.Y., Shin E.G., Kwon K.J.H. and Kwon Y.K. (2011) Characterization of *Escherichia coli* isolates from laying hens with colibacillosis on 2 commercial egg-producing farms in Korea. *Poul. Sci.* 90:1948–1954.
- Radwan I.A., Salam H.H.S., Abd-Alwanis S.A.A. and Al-Sayed M.A.Y. (2014) Frequency of some virulence associated genes among multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from septicemic broiler chicken. *Int J of Adv Res.* 2(12):867-874.
- Ramirez R.M., Almanza Y., Gonzalez R., Garcia S. and Heredia N. (2009) Avian pathogenic *Escherichia coli* bind fibronectin and laminin. *Vet. Res. Comm.* 33:379-386.
- Rehman M.U., Rashid M., Sheikh J.A. and Bhat M.A. (2014). Molecular epidemiology and antibiotic resistance pattern of Enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from bovines and their handlers in Jammu, India. *J. of Adv. Vet. and Anim. Res.* 1:177-181.
- Rodriguez-Siek K.E., Giddings C.W., Doetkott C., Johnson T.J., and Nolan, L.K. (2005) Characterizing the APEC pathotype. *Vet. Res.* 36:241–256.
- Roy P., Edwin P.G. and Pursushothaman V. (2004) Characterization of *Escherichia coli* isolates from hatchery and breeder hens. *Indian Vet. J.* 81:1317-1320.
- Roy P., Purushothman V., Kotesswaran A. and Dhillon P. (2006) Isolation, Characterization and Antibimicrobial Drug Resistance Pettern of *Eschrichia coli* Isolated from Japanese Quail and their Environment. *J. Af App Poult Res.* 15:442-446.
- Roy SR., Rahman M.B., Hassan J. and Nazir K.H.M.N.H. (2012). Isolation and identification of bacterial flora from internal organs of broiler and their antibiogram studies. *Microbes and Health* 1:72-78.
- Saif Y.M., Fadly A.M., Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K. and Swayne, D.E. (2008) *Diseases of poultry*. 12th ed. Blackwell Publishing, London.
- Salehi T.Z., Safarchi A., Peighambari S.M., Mahzounieh M. and Khorasani R.M.

- (2007) Detection of *stx1*, *stx2*, *eae*, *espB* and *hly* genes in avian pathogenic *Escherichia coli* by multiplex polymerase chain reaction. *J. Vet. Res.* 62(2):37-42.
- Salehi Z., Yahya T. and Raeyat R. (2001) Serotyping of isolated *Escherichia coli* from poultry in Tehran province. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran.* 56:17-20.
- Salehi, M. and Ghanbarpour, R. (2010) Phenotypic and genotypic properties of *Escherichia coli* isolated from colisepticemic cases of Japanese quail. *Trop An. Health and Product.* 42(7):1497-1504.
- Sarah A.Y., Ammar A.M. and Ahmed D.A. (2015) Serological and Molecular Typing of Avian Pathogenic *E. coli* Originating from Outbreaks of Colibacillosis in Chicken Flocks. *Int. J. of Sci. and Res. (IJSR)* 4(2): 2062-2088.
- Sepehri G. and Zadeh A.H. (2006) Prevalence of bacterial resistance to commonly used antimicrobials among *Escherichia coli* isolated from chickens in Kerman Province of Iran. *J. Med. Sci. Pakistan.* 6(1):99-102.
- Soon-Gu K., Se-Yeoun C., Eun-Ju C., Kim B., Hee-Jong S. and Hyung-Kwan J. (2008) Epidemiological Prevalence of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Differentiated by Multiplex PCR from Commercial Chickens and Hatchery in Korea. *J of Bacteriol and Virol.* 38(4):179-188.
- Suryani A.E., Karimy M.F., Istiqomah L., Sofyan A., Herdian H. and Wibowo M.H. (2014) Colibacillosis Prevalence In Broiler Chicken Infected By *Escherichia coli* With Administration of Bioadditive. *Probiotic and Antibiotic Widyariset*, 17(2):233-244.
- Talebiyan R., Kheradmand M., Khamesipour F. and Rabiee-Faradonbeh M. (2014) Multiple Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* Isolated from Chickens in Iran. *H i n d a w i P u b l i s h i n g Corporation. Veterinary Medicine International Article ID 491418*, 4 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2014/491418>
- Zinnah M.A., Bari M.R., Islam M.T., Hossain M.T., Rahman M.T., Haque M.H., Babu S.A.M., Ruma R.P. and Islam M.A. (2007) Characterization of *Escherichia coli* Isolated from Samples of Different Biological and Environmental Sources. *Bangl. J. Vet. Med.* 5 (1 and 2):25-32.