

Uji Kepekaan Bakteri *Escherichia coli* Asal Ayam Pedaging terhadap Antibiotik Doksisisiklin, Gentamisin, dan Tiamfenikol

Daniel Opristanta Barus, Ketut Tono Pasek Gelgel , I Gusti Ketut Suarjana

Lab. Mikrobiologi Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana
Jl. P. B. Sudirman Denpasar Bali
E-mail : opristanta@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pola kepekaan bakteri *Escherichia coli* penyebab kolibasilosis pada ayam pedaging terhadap pemberian antibiotik gentamisin, doksisisiklin, dan tiamfenikol. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *E.coli* yang diisolasi dari hati ayam pedaging dari delapan peternakan ayam pedaging di tujuh daerah di Bali yaitu daerah Dalung, Kapal, Penarungan, Singapadu, Ketewel, Payangan, dan Baturiti. Isolat diambil dari hati ayam. Uji kepekaan bakteri *E.coli* terhadap antibiotik gentamisin, doksisisiklin dan tiamfenikol menggunakan metode Kirby-Bauer. Pada uji ini dipergunakan kertas cakram yang mengandung antibiotik Gentamisin, Doksisisiklin dan Tiamfenikol. Hasil uji kepekaan bakteri *E.coli* patogen dengan metode Kirby Bauer ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening dari antibiotik doksisisiklin, gentamisin, dan tiamfenikol. Bakteri *E.coli* yang diisolasi dari ayam pedaging resisten terhadap antibiotik doksisisiklin, kurang peka (*intermediate*) terhadap antibiotik gentamisin, dan sensitif terhadap antibiotik tiamfenikol.

Kata kunci : *Escherichia coli* , Gentamisin, Doksisisiklin dan Tiamfenikol

ABSTRACT

This study aim to determine the resistance's pattern of *Escherichia coli* that cause Colibacillosis in broiler with antibiotics administration gentamicyn, doxicyclin, and Thiamphenicol. The sample that used in this study was *E.coli* which is isolated from broiler's liver from 8 farm's in 7 district/areas in Bali that is Dalung, Kapal, Penarungan, Singapadu, Ketewel, Payangan, and Baturiti. Isolat was taken from broiler's liver. Test resistance of *E.coli* for antibiotics gentamicyn, doxicyclin, and thiamphenicol using Kirby Bauer methodes. Result of resistance test patogen *E.coli* with Kirby Bauer methode shown with formed of clear zone from antibiotic gentamicyn, doxicyclin, and thiamphenicol. *Escherichia coli* which isolated from broiler's are resistant to doxicyclin, intermediate with gentamicyn, and sensitivity with thiamphenicol.

Keywords : *Escherichia coli*, Gentamicyn, Doxicyclin, and Thiamphenicol

PENDAHULUAN

Dewasa ini peternakan unggas khususnya peternakan ayam pedaging merupakan salah satu sektor yang mempunyai peranan sangat penting dalam perekonomian nasional khususnya untuk memenuhi kebutuhan protein hewani masyarakat. Hal ini dikarenakan

meningkatnya permintaan terhadap daging ayam seiring dengan meningkatnya penghasilan dan kesadaran penduduk akan pentingnya protein hewani (Ahmad dan Elfawati, 2008).

Ayam pedaging (*broiler*) adalah jenis unggas yang telah mengalami seleksi gen bertahun-tahun. *Broiler* yang dipelihara saat ini memiliki berbagai macam strain. Semua jenis strain yang telah dikembangkan memiliki daya produktifitas relatif sama. Artinya seandainya terdapat perbedaan, perbedaannya tidak menyolok atau sangat kecil sekali. Adapun jenis strain ayam pedaging (*Broiler*) yang banyak beredar di pasaran adalah: *Super 77, Tegel 70, ISA, Kim cross, Lohman 202, Hyline, Vdett Yabro, Goto, Arbor arcres, Tatum, Indian river, Hybro, Cornish, Brahma, Langshans, Hypeco-Broiler, Ross, Marshall"m", Euribrid, A.A 70, H&N, Bromo* (Cahyono, 1995).

Seiring hal tersebut diatas untuk memenuhi produksi peternakan perunggasan yang terus meningkat, potensi yang besar dan prospek pengembangan yang begitu terbuka, bukanlah jaminan bagi suatu usaha akan berjalan mulus tanpa permasalahan. Dalam mengelola peternakan *broiler* ini masih sering sekali ditemukan adanya berbagai kendala yang sangat merugikan, dari masalah manajemen kandang hingga masalah penyakit. Ada banyak penyakit pada ayam pedaging seperti penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri, jamur dan parasit. Salah satu penyakit yang disebabkan oleh bakteri adalah infeksi bakteri *Eschericia coli (E.coli)* yang merupakan infeksi bakteri yang paling umum dijumpai pada peternakan *broiler* yang dikenal dengan penyakit kolibasilosis. Infeksi *E.coli* pada unggas umumnya bersifat sistemik dan menimbulkan bakteriemia (Bisping *et al.*, 1988).

Infeksi *E.coli* menyebabkan kematian embrio pada telur tetas, infeksi kuning telur, koliseptisemia, peradangan kantung udara, radang usus, infeksi saluran reproduksi, radang persendian dan bahkan menyebabkan kematian. Mortalitas dari penyakit ini adalah 10 – 15 %. Penularan kolibasilosis biasanya terjadi secara oral melalui pakan, air minum atau debu yang tercemar oleh *E.coli*. Bakteri *E.coli* juga mampu menyebar melalui peredaran darah sehingga dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ sehingga mengganggu pertumbuhan dari ayam tersebut (Tabbu, 2000) hal ini akan menyebabkan kerugian yang cukup besar untuk peternak *broiler*.

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.

Resistensi merupakan kemampuan dari bakteri atau mikroorganisme lain untuk menahan efek antibiotika sehingga walaupun ternak tersebut diberikan antibiotika bakteri tetap dapat bertahan hidup dan bertambah banyak sehingga semakin dapat membahayakan ternak (Mutschler, 1991). Pemberian antibiotik yang sering, irasional, dan dalam jangka waktu yang lama semakin dapat memperbesar kemungkinan terjadinya resistensi kuman (Setiabudy, 2007).

Umumnya peternak *broiler* sering memberikan antibiotik kepada ternaknya untuk mengobati penyakit bakteri diantaranya untuk mengobati kolibasilosis. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh Charoen Pokphan di beberapa peternak di Bali pada bulan Juni tahun 2010 ternyata menunjukkan bahwa *E.coli* telah resisten terhadap amoksilin, ampisilin, enrofloksasin, streptomisin, dan tetrasiklin. Reaksi *E.coli* terhadap gentamisin hasilnya intermediate dan terhadap kolistin sensitif. Hasil yang tidak berbeda didapatkan pada penelitian di Perancis yang menunjukkan adanya resistensi yang cukup tinggi terhadap *E.coli*. Studi ini melaporkan bahwa amoksilin, amoksilin asam klavulanat, perfloksasin dan ofloksasin ternyata resisten terhadap *E.coli* (Sotto *et al.*, 2001).

Dari hasil survei yang telah saya lakukan pada beberapa peternakan di beberapa daerah di Bali penggunaan antibiotik doksisisiklin merupakan antibiotik yang cukup sering digunakan oleh peternak di Bali, gentamisin jarang digunakan sedangkan antibiotik tiamfenikol merupakan antibiotik yang tidak dianjurkan untuk digunakan pada ternak karena merupakan obat pilihan untuk mengatasi thipus pada manusia. Sehingga berdasarkan asumsi diatas perlu dilakukan penelitian terhadap antibiotik-antibiotik tersebut.

METODE PENELITIAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *E.coli* yang diisolasi dari hati ayam pedaging dari delapan peternakan ayam pedaging di tujuh daerah di Bali. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pisau, gunting, *cotton swab* steril, pinset, tabung reaksi, *ossa*, *needle*, *incubator*, gelas ukur, gelas beaker, *autoclave*, api bunsen, kain hitam, jerigen 20 liter, kertas whatman no. 41, mortar, seperangkat alat pengering suhu rendah (*freeze dryer*) dan mistar plastik. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain antibiotik Gentamisin, Doksisisikline, dan Tiamfenikol, Alkohol 70%, delapan tabung *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), delapan tabung *Mueller-Hinton Broth* (MHB), tiga petri *Eosin Methylen Blue Agar* (EMBA), dan sebelas petri *Nutrient Agar* (NA).

Semua peralatan yang akan digunakan dalam penelitian ini harus dalam keadaan steril. *Sterilisasi* pada peralatan yang tahan panas dilakukan dengan cara memasukkan kedalam *autoclave* pada temperature 121°C dengan tekanan 15 p.s.i selama 15 menit. Sedangkan untuk peralatan yang tidak tahan panas, *sterilisasi* dilakukan dengan menggunakan alkohol 70%.

Isolasi dan identifikasi kuman dilakukan sebagai berikut : sampel berupa *E.coli* yang berasal dari hati ayam pedaging ditanam pada media EMBA dengan metode *strik* dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni *E.coli* akan tumbuh berwarna hijau metalik kemudian diidentifikasi dengan uji (*Triple Sugar Iron Agar*) TSIA. Koloni menunjukkan reaksi positif pada fermentasi Glukosa, Laktosa, dan Sukrosa. Koloni *E.coli* memproduksi gas dan bereaksi negatif terhadap H₂S sehingga media TSIA akan terlihat berwarna kuning (Arp, *et al.*, 1989). Media ini juga digunakan sebagai persediaan sementara bakteri *E.coli*.

Isolat diambil dari hati ayam. Uji kepekaan bakteri *E.coli* patogen terhadap antibiotik gentamisin, doksisisiklin dan tiamfenikol menggunakan metode *Kirby-Bauer* (Koneman, *et al.*, 1988). Pada uji ini dipergunakan kertas cakram yang mengandung antibiotik Gentamisin, Doksisisiklin dan Tiamfenikol. Cara kerja uji kepekaan dengan metode *Kirby-Bauer* adalah sebagai berikut :

- a. Inokulasikan 3 – 10 koloni *E.coli* kedalam 4 – 5 ml Mueller Hinton cair lalu inkubasikan pada suhu 37 °C selama 2 – 5 jam sampai terlihat adanya kekeruhan. Kekeruhan yang tampak disetarakan dengan standar kekeruhan Mc Farland 0.5 yang setara dengan 10⁸ (*Coloni Forming Unit*) CFU/ml dengan menambahkan akuades sebagai pengencer.
- b. *Cotton swab* steril dimasukkan dalam suspensi bakteri kemudian dioleskan secara perlahan dan merata ke Media Nutrient Agar.
- c. Tunggu selama 3 – 5 menit agar suspensi tersebut terserap merata.
- d. Kertas cakram yang mengandung antibiotik gentamisin, doksisisiklin dan tiamfenikol ditempelkan pada agar dengan jarak 2 cm dari tepi plate dan 2 cm antara kertas cakram yang satu dengan yang lainnya.
- e. Inkubasikan pada suhu 37 °C selama semalam atau 12 jam.

Ukur diameter daya hambat pertumbuhan bakteri dari kertas cakram yang mengandung antibiotik gentamisin, doksisisiklin dan tiamfenikol diukur dan dicocokkan

hasilnya dengan standar diameter zona hambat. Variabel yang diamati adalah besarnya diameter daya hambat (satuan mm) dari masing-masing perlakuan.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Non Parametrik. Data yang diperoleh dianalisa secara statistik dengan mempergunakan analisis secara deskriptif. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana, Denpasar pada bulan Juli – Agustus 2010 dan survey dilakukan pada bulan Juni – Juli 2010.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Isolasi dan Identifikasi Isolat Lapangan

Hasil isolasi dan identifikasi dari isolat lapangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Koloni yang tumbuh pada media EMBA berwarna hijau metalik. Ciri ini sesuai dengan ciri koloni *E.coli* yang tumbuh dengan warna hijau metalik pada media EMBA (Fardiaz, 1990).

- b. Hasil uji IMViC

Pada uji IMViC, koloni yang digunakan berasal dari hati dan diperoleh hasil sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Uji IMViC

Uji	Indol	MR	VP	Citrat
Hasil	+	+	-	-

Metode yang digunakan dalam uji ini sesuai dengan (Arp, *et al.*, 1989)

E.coli menunjukkan hasil Indol positif, ditunjukkan dengan kehadiran warna merah pada media. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu memecah asam amino tryptopan membentuk senyawa benzaldehid yang tidak larut dalam air. Sesudah ditambahkan larutan *methyl red* terbentuk cincin berwarna merah yang menandakan hasil positif. Dari uji *Voges Proskauer* tidak terbentuk warna eosin merah muda sehingga hasilnya negatif dan dari uji *Citrat* tidak ditemukan adanya pertumbuhan (perubahan warna dari hijau ke biru) sehingga hasilnya negatif. Hal ini sesuai dengan ciri *E.coli*.

Hasil Uji Kepekaan *E.coli*

Hasil uji kepekaan bakteri *E.coli* patogen dengan metode Kirby Bauer ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening dari antibiotik doksisisiklin, gentamisin, dan tiamfenikol dengan hasil dapat dilihat pada tabel 2 dibawah ini

Tabel 2. Diameter Zona Hambat Yang Terbentuk (mm)

Isolat	Antibiotik		
	Doksisiklin	Gentamisin	Tiamfenikol
1	29	22	30
2	20	11	26
3	15	21	20
4	15	16	18
5	15	18	26
6	11	22	30
7	14	13	23
8	21	15	20

Ket : - Sampel 1 : Daerah Penarungan - Sampel 5 : Daerah Payangan
 -Sampel 2 : Daerah Tunjuk - Sampel 6 : Daerah Baturiti
 -Sampel 3: Daerah Singapadu - Sampel 7 : Daerah Darma Sabha
 -Sampel 4 : Daerah Ketewel - Sampel 8 : Daerah Mengwi

Berdasarkan diameter zona hambat yang doksisiklin, gentamisin, dan tiamfenikol setelah dibandingkan dengan tabel standar kepekaan *E.coli* terhadap antibiotik doksisiklin, gentamisin, dan tiamfenikol (Giguere,*et.al.*, 1989).

Tabel 3. Standar Diameter Zona Hambat Doksisiklin, Gentamisin, dan Tiamfenikol

Antibiotik	Zona Hambat (mm)		
	R	I	S
Doksisiklin	≤ 14	15 – 18	≥ 19
Gentamisin	≤ 12	13 – 15	≥ 16
Tiamfenikol	≤ 12	13 – 17	≥ 18

Ket : R : Resisten, I : Intermediate, S : Sensitif

Maka dapat dilihat bahwa pola kepekaan kuman *E.coli* terhadap antibiotik doksisiklin, gentamisin, dan tiamfenikol seperti yang di uraikan pada tabel 4.

Tabel 4. Pola kepekaan *E.coli* Terhadap Doksisiklin, Gentamisin dan Tiamfenikol

Sampel	Antibiotik		
	Doksisiklin	Gentamisin	Tiamfenikol
1	S	S	S
2	S	R	S
3	I	S	S
4	I	S	S
5	I	S	S
6	R	S	S
7	R	I	S
8	S	I	S

Ket : R : Resisten, I : Intermediate S : Sensitif

Hasil Analisis

Dari hasil diatas setelah di analisa secara deskriptif dapat diketahui persentase kepekaan tiap antibiotik tersebut adalah sebagai berikut :

- a. Pola kepekaan bakteri *E.coli* patogen terhadap antibiotik doksisisiklin yaitu resisten (25%), *intermediate* (37,5%) dan sensitif (37,5%)
- b. Pola kepekaan bakteri *E.coli* patogen terhadap antibiotik gentamisin yaitu resisten (12,5%), *intermediate* (25%) dan sensitif (62,5%)
- c. Pola kepekaan bakteri *E.coli* patogen terhadap antibiotik doksisisiklin yaitu resisten (0%), *intermediate* (0%) dan sensitif (100%)

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa pola kepekaan isolate bakteri *E.coli* patogen adalah nresisten terhadap antibiotik doksisisiklin, kurang peka (*intermediate*) terhadap antibiotik gentamisin dan sensitif terhadap antibiotik tiamfenikol.

SARAN

Untuk mengatasi kejadian kolibasilosis sebaiknya mempertimbangkan untuk menggunakan antibiotik gentamisin dan perlu dicari antibiotic alternative yang lain yang peka terhadap bakteri *E.coli* di daerah tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad dan Elfawati. 2008. Performans Ayam Broiler yang Diberi Sari Buah Mengkudu (*Morind Citrifolia*). Jurnal Peternakan Vol 5 No.1. Jakarta. Halaman 10 – 13.
- Arp, L. H., Chairman, H. G. P., Domermuth, C. H. H and Pearson, J. E. 1989. A Laboratory Manual for The Isolation and Identification of Avian Pathogens. Third Edition. Kendall/Hunt Publishing Company. United States of America.
- Bisping W, Amtsberg G.A. 1988. Color Atlas for The Diagnosis of Nacterial Pathogen in Animals. Berlin. Paul Parey Scientific Publisher. Germany
- Cahyono, Bambang. 1995. Cara Meningkatkan Budidaya Ayam Ras Pedaging (Broiler). Penerbit Pustaka Nusatama, Yogyakarta.
- Fardiaz, S. 1990. Analisis Mikrobiologi Pangan. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.

Giguere, S. Prescott, J.F. Baggot, J.D. Walker, R.D. Dowling, P.M. 2006. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine. USA.

Koneman, E.W., Allen, S.D., Dowell, V.R., Janda, W.M., Sommers, H.M., Winn, W.C. 1988. Diagnostic Microbiology. Third Edition. J.B. Lippincott Company, Pennsylvania.

Mutschler, 1991. Dinamika Obat, edisi V, 129, Penerbit ITB, Bandung.

Setiabudy, R. 2007. Farmakologi dan Terapi. Edisi ke-V. Departemen Farmakologi dan Terapeutik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

Sotto A, De Boever CM, Fabro – Peray P, Gouby A, Sirot D, Jourdan J. 2001. Risk Factors for Antibiotic – Resistant *Escherichia coli*. J Clin Microbiol.

Tabbu, C.R. 2000. Penyakit Ayam dan Penanggulangannya. Kanisius, Yogyakarta.