

Daya Hambat Aktinomisetes terhadap Isolat *Escherichia coli* Tahan Antibiotik Asal Daging Ayam yang Dilalulintaskan Melalui Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya

(INHIBITORY EFFECT OF ACTINOMYCETES AGAINST ANTIBIOTIC RESISTANT ESCHERICHIA COLI ISOLATED FROM CHICKEN MEAT WHICH TRANSPORTED THROUGH TANJUNG PERAK SURABAYA PORT)

**Rakhmi Ros Sari^{1,3}, Mirnawati Sudarwanto²,
Denny Widaya Lukman²**

¹Program Studi Kesehatan Masyarakat Veteriner
Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor
²Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor
³Medik Veteriner Muda, Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya
Jl. Raya Bandara Juanda No.26, Semawalang, Semabung, Gedangan,
Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur, Indonesia 61253
Telepon: (031) 8673997; Email: rakhmirossaridrh@gmail.com

ABSTRACT

The emergence of antibiotic-resistant bacteria is a common problem nowadays. This problem has led to more difficult treatment of infectious diseases and the higher cost of treatment for the diseases. Therefore, it is necessary to develop a new type of antimicrobial that has ability to control the pathogenic bacteria without causative resistance. The aim of this research was to measure the actinomycetes ability which produced antimicrobial against antibiotic-resistant *E. coli* taken from poultry meat in Tanjung Perak Port Surabaya. The actinomycetes isolates used in this study were *Streptomyces* genus, *Streptomyces* 3 (Sp 3), *Streptomyces* 44 (Sp 44), *Streptomyces* 46 (Sp 46), *Streptomyces* 47 (Sp 47) and *Streptomyces* 413 (413). Two isolates of actinomycetes, Sp 47 and Sp 413, were found to have an inhibitory effect on the growing of antibiotic-resistant *E. coli*. Based on the average affect of inhibition ability, actinomycetes InaCC was the strongest while InaCC 47 was weak.

Keywords: actinomycetes; antimicrobial resistance; *Escherichia coli*; poultry meat.

ABSTRAK

Kemunculan bakteri yang tahan terhadap antibiotik menjadi masalah baru saat ini karena selain menyebabkan penyakit infeksi sulit diobati dan semakin tingginya biaya pengobatan, sehingga menyebabkan perlu dikembangkan antibiotik jenis baru yang dapat mengendalikan bakteri-bakteri patogen. Penelitian ini bertujuan mengukur daya hambat aktinomisetes penghasil antimikrob pada *E. coli* yang tahan terhadap antibiotik yang diisolasi dari daging ayam yang pengirimannya melalui pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. Isolat aktinomisetes yang digunakan dalam penelitian ini adalah dari genus *Streptomyces* yaitu *Streptomyces* 3 (Sp 3), *Streptomyces* 44 (Sp 44), *Streptomyces* 46 (Sp 46), *Streptomyces* 47 (Sp 47) dan *Streptomyces* 413 (413). Dari hasil penelitian terdapat dua isolat aktinomisetes yang menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu Sp 47 dan Sp 413. Berdasarkan rata-rata daya hambat yang dihasilkan aktinomisetes Sp 413 dikategorikan mempunyai daya hambat yang kuat dan Sp 47 mempunyai daya hambat lemah.

Kata-kata kunci: aktinomisetes; tahan antibiotika; *Escherichia coli*; daging ayam

PENDAHULUAN

Kemunculan bakteri yang tahan terhadap antibiotik, kini menjadi masalah baru saat ini karena berpotensi menyebabkan penyakit infeksi yang sulit diobati dan tingginya biaya pengobatan. Pada tahun 2014 Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperingatkan adanya krisis ketahanan bakteri terhadap antibiotika yang terus meningkat dan membahayakan (Ventola 2015). Ancaman resistensi merupakan isu serius bagi kesehatan masyarakat dunia publik global yang memerlukan perhatian dari berbagai sektor. Beberapa ahli memperkirakan bahwa pada tahun 2050, infeksi akibat bakteri yang tahan antibiotik dapat menyebabkan kematian pada manusia hingga 10 juta per tahun dan biaya penanganannya mencapai US\$ 100 triliun (Grace 2015). *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri patogen penyebab *foodborne disease* yang membahayakan kesehatan manusia, selain itu merupakan bakteri komensal yang dapat digunakan untuk memantau tingkat sanitasi dan tahan antimikroba pada hewan ternak dan produknya (OIE 2015).

Gen tahan dapat dipindahkan dari satu bakteri ke bakteri lain pada hewan dan manusia melalui rantai makanan atau kontak langsung (Odelowo *et al.*, 2014; Jahantigh dan Dizaji, 2015). Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyatakan terdapat korelasi positif antara penggunaan antibiotika pada manusia dan hewan dengan terjadinya ketahanan bakteri terhadap antibiotik (Abbassi *et al.*, 2017).

Ketahanan bakteri terhadap antibiotik menyebabkan perlu dikembangkan antibiotika jenis baru yang dapat mengendalikan bakteri-bakteri patogen. Banyak penelitian dilakukan untuk dapat mengendalikan mikroba patogen dan mengidentifikasi antimikroba alami. Senyawa-senyawa yang diperoleh dari bahan alam terutama tanaman dan mikroba memberikan hasil yang menjanjikan dalam pengembangan senyawa-senyawa antibiotika baru. Di antara jenis mikroorganisme yang ada, aktinomisetes merupakan sumber yang potensial sebagai penghasil antibiotika. Genus *Actinomyces* yang paling banyak dan terkenal menghasilkan antibiotika yaitu genus *Streptomyces*, 75% dari antibiotika yang ada dihasilkan oleh bakteri ini (Sulistiyani dan Widayastuti, 2011; Nurkanto *et al.*, 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengukur daya hambat aktinomisetes penghasil antibakteri pada *E. coli* yang tahan terhadap antibiotika yang diisolasi dari daging ayam yang pengirimannya melalui Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang aktinomisetes sebagai penghasil antibakteri pada *E. coli* yang tahan terhadap antibiotik.

METODE PENELITIAN

Pengambilan Sampel Daging Ayam

Sampel diambil dari daging ayam yang pengirimannya melalui Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. Jumlah sampel dihitung berdasarkan rumus deteksi penyakit yang ditetapkan oleh Martin *et al.* (1987). Metode ini digunakan untuk mendeteksi keberadaan suatu penyakit dalam suatu populasi. Besaran sampel yang diambil dalam penelitian ini, berdasarkan rumus: $n = [1 - (1 - a)^{1/D}] [N - (D - 1)/2]$. Dalam hal ini, n : besaran sampel yang digunakan; a : tingkat kepercayaan; D : asumsi prevalensi; N : jumlah populasi. Dengan tingkat kepercayaan 95%, asumsi prevalensi 3,4% dari frekuensi daging ayam yang pengirimannya melalui Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya maka didapat jumlah sampel ideal: $n = [1 - (1 - 0.95)^{1/252.076}] [7614 - (252.076 - 1)/2] = 88,467$ H" 89 sampel.

Isolasi dan Identifikasi *Escherichia coli*

Sebanyak 25 g sampel ditimbang kemudian ditambah dengan 225 mL *ryptic soy broth* (TSB) (Merck, Germany). Setelah itu dihomogenisasi dengan *stomacher* selama 10 menit kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16-24 jam. Dilanjutkan dengan menginokulasikan biakan ke *Mac Conkey agar* (MCA) (Merck, Germany) dan diinkubasikan pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni yang diduga *E. coli* berwarna merah muda. Koloni yang tumbuh pada MCA kemudian dipindahkan ke medium *eosin methylen blue agar* (EMBA) (Merck, Germany) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Pada media EMBA koloni yang diduga *E. coli* berwarna hitam/gelap pada bagian pusat koloni dengan warna metalik kehijauan. Pengujian biokimia dilakukan pada IMVIC (indol, merah metil, Voges-Proskauer, sitrat). Hasil *suspect E. coli* kemudian dikonfirmasi dengan kit API 20E (Biomerieux, France), dan sebagai kontrol positif digunakan isolat *E. coli* strain ATCC 25922 (Microbiologic, USA) (Akbar *et al.*, 2014).

Pembuatan Suspensi bakteri *E. coli*

Sebanyak satu Oose bakteri hasil isolasi dan identifikasi diambil kemudian dipindahkan pada media Caso agar (Merck, Germany) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Koloni yang tumbuh pada media TSA diambil sebanyak ± 3 koloni bakteri dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 mL Caso broth (Merck, Germany), lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 3-5 jam. Selanjutnya diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai kekeruhan bakteri sama dengan standar 0,5 Mc Farland ($1-2 \times 10^8$ cfu/mL).

Peremajaan Aktinomisetes

Isolat aktinomisetes yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari koleksi Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI dari genus *Streptomyces* yaitu *Streptomyces* 3 (SP-3), *Streptomyces* 44 (SP 44), *Streptomyces* 46 (SP 46), *Streptomyces* 47 (SP 47) dan *Streptomyces* 413 (SP 413). Isolat aktinomisetes diremajakan ke dalam media ISP-2 agar (*malt extract* 1%, *yeast extract* 0,4%, *glucose* 0,4% dan agar 1,5%) dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama empat hari. Aktinomisetes umur inkubasi empat hari digunakan untuk seleksi aktinomisetes penghasil antibakteri terhadap bakteri uji *E. coli*

Uji Ketahanan Isolat terhadap Antibiotika

Uji kepekaan terhadap antibiotika dilakukan terhadap semua koloni *E. coli* yang diperoleh dari hasil isolasi. Isolat *E. coli* disiapkan dalam bentuk suspensi yang setara dengan kekeruhan 0,5 McFarland ($1-2 \times 10^8$ cfu/mL). Biakan tersebut diambil dengan menggunakan *cotton swab* steril dan disebarkan pada permukaan *Mueller Hilton Agar* (MHA) (Merck, Germany), dan didiamkan selama ±5 menit. Selanjutnya dengan metode *Kirby-Bauer*, kertas cakram komersial yang berisi antibiotika (amoksisilin, tetrasiklin, oksitetrasiklin, streptomisin, eritromisin, kolistin, asam nalidiksik dan sefotaksim) (Oxoid, UK) diletakkan di atas MHA, yang telah disebarkan dengan biakan murni dengan jarak antara 25-30 mm. Selanjutnya biakan tersebut diinkubasi pada suhu 35 °C selama 18-24 jam pada kondisi aerob. Penentuan kategori ditentukan melalui ukuran diameter hambat yang terbentuk berdasarkan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI 2015).

Pengujian Daya Hambat Aktinomisetes Tahap Pertama

Prinsip dari metode *bioassay* secara difusi agar adalah menggunakan dua lapis media agar. Lapisan bawah terdiri dari 10-15 mL media MHA. Setelah agar lapisan bawah mengeras, ditambahkan media agar lapisan atas yang terdiri dari 5 mL media MHA dengan konsentrasi setengahnya dari lapisan bawah. Isolat bakteri *E. coli* dibuat dalam bentuk suspensi yang setara dengan kekeruhan 0,5 McFarland ($1-2 \times 10^8$ cfu/mL) diinokulasi/ditambahkan terlebih dahulu ke dalam agar lapisan atas dan dituang dalam cawan petri yang berisi lapisan bawah yang telah mengeras.

Isolat aktinomisetes yang tumbuh pada ISP-2 agar, diambil dengan cara memotong agar yang ditumbuhi aktinomisetes menggunakan *straw* steril berdiameter 6 mm. Potongan agar dengan isolat aktinomisetes diletakkan secara aseptik di atas lapisan atas media MHA. Sediaan *bioassay* diinkubasikan pada suhu 30 °C selama 24 jam. Masing-masing isolat aktinomisetes umur empat hari diamati kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*.

Diameter zona hambat aktinomisetes terhadap bakteri uji ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar potongan agar dan diukur. Koloni aktinomisetes yang digunakan untuk uji daya hambat tahap pertama adalah koloni umur empat hari dimana aktinomisetes diharapkan sudah memasuki fase stationer yang akan menghasilkan senyawa antibakteri dari hasil metabolisme sekunder. Berdasarkan laporan penelitian sebelumnya, (Susilowati (2014); dan Wahyuni (2014), bahwa waktu inkubasi optimal untuk mensekresikan senyawa antibakteri adalah 72-96 jam. Penghambatan terjadi akibat adanya senyawa antibakteri pada media yang disekresikan oleh aktinomisetes. Semakin banyak senyawa antibakteri yang disekresikan ke media, semakin besar diameter zona hambatnya (Susilowati 2007; Wahyuni 2014).

Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Aktinomisetes yang memiliki zona hambat besar dan dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* diremajakan kembali dalam media ISP-2 dan diinkubasikan pada suhu 30 °C. Koloni aktinomisetes ditanam dalam media produksi cair (*malt extract* 1%, *yeast extract* 0,4%, *glucose* 0,4%). Kultur aktinomisetes

diinkubasikan pada *shaker* dengan kecepatan 200-220 rpm pada suhu ruang (28-30 °C) selama tujuh hari. Biakan aktinomisetes dalam media cair disentrifugasi dengan kecepatan 4 000 rpm (*rotation per minutes*), suhu 4 °C selama 15 menit dan diambil supernatannya.

Berdasarkan laporan penelitian sebelumnya, (Sulistiyani (2014) proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat karena etil asetat bersifat semi polar dan mampu mengambil metabolit sekunder aktinomisetes dalam jumlah yang banyak.

Fasa cair (supernatan) diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan volume yang sama sebanyak tiga kali. Campuran dikocok dan didiamkan selama 30 menit sampai terbentuk fraksi cair dan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat yang diperoleh dievaporasi sampai pekat (sampai tersisa ± 1 mL). Filtrat ini digunakan untuk uji daya hambat tahap kedua (Wahyuni 2014).

Pengujian Daya Hambat Aktinomisetes Tahap Kedua

Uji aktivitas antibakteri (*bioassay*) dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Kertas cakram direndam dalam hasil ekstraksi kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Selanjutnya diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi bakteri uji. Kontrol yang digunakan yaitu etil asetat. Inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C selama 24 jam (Wahyuni 2014). Zona bening yang terbentuk diukur diameter zonanya. Menurut Davis dan Stout (1971) daya antibakteri dikategorikan sebagai berikut: daerah hambatan 10-20 mm (kuat), daerah hambatan 5-10 mm (sedang), daerah hambatan 5 atau kurang (lemah).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian isolasi dan identifikasi dari 89 sampel, 14 dari 89 sampel daging ayam tersebut positif *E. coli* (15,7%). Bakteri *E. coli* merupakan mikrobiota normal penghuni saluran pencernaan pada manusia dan hewan, di sisi lain bakteri ini sebagai salah satu penyebab *food borne disease* yang dapat membahayakan kesehatan manusia. Ditemu-

kannya bakteri tersebut pada bahan makanan dapat menjadi indikator adanya bakteri patogen lain (Akbar *et al.*, 2014). Karkas daging ayam dapat tercemar bakteri karena kesalahan penanganan produk unggas di rumah potong ayam serta dikaitkan dengan proses *hygiene* dan sanitasi yang kurang baik (Wibowo *et al.*, 2011; Bhaskara *et al.*, 2012).

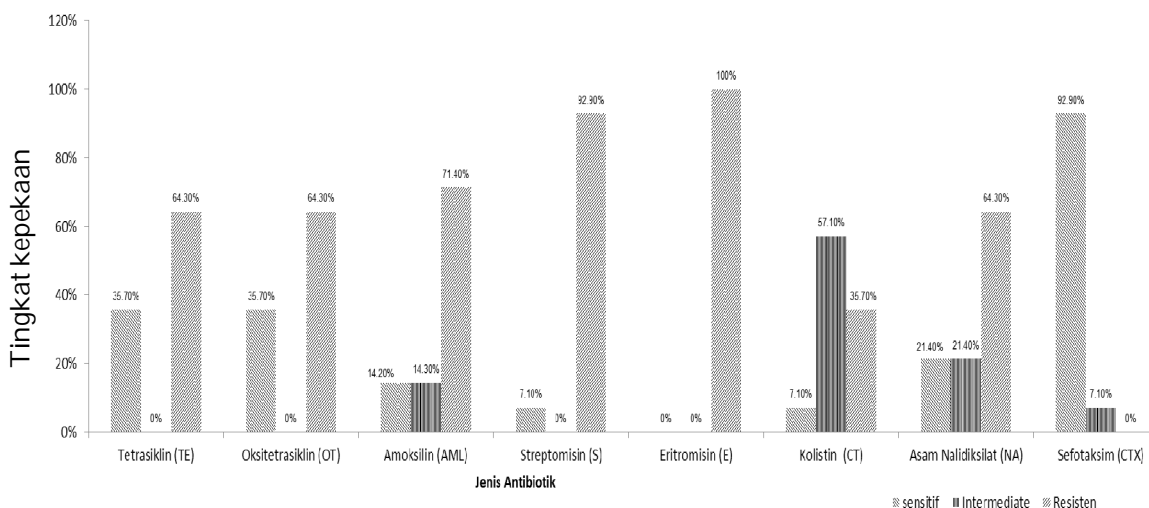
Beberapa penelitian tentang adanya cemaran *E. coli* pada daging ayam telah dilaporkan di berbagai wilayah Indonesia, karena bakteri ini merupakan indikator sanitasi. Penelitian serupa yang telah dilakukan oleh Dewantoro *et al.* (2009) menyatakan prevalensi *E. coli* pada daging ayam beku yang dilalulintaskan melalui pelabuhan penyeberangan Merak yaitu sebesar 26,42%. Matulesy (2011) juga melakukan analisis mikrobiologik karkas ayam beku di Halmehera Utara dan masih ditemukan adanya cemaran bakteri ini.

Pada penelitian ini semua isolat *E. coli* yang diisolasi dari daging ayam yaitu sebanyak 14 isolat menunjukkan ketahanan terhadap antibiotika yang digunakan (Gambar 1). Dari 14 isolat *E. coli* tersebut ketahanan tertinggi terdapat pada antibiotik eritromisin (100%), kemudian berturut turut streptomisin (92,9%), amoksilin (71,4%), tetrasiklin, oksitetrasiklin, dan asam nalidiksat (64,3%) serta kolistin (35,7%). Bakteri ini juga menunjukkan hasil yang *intermediate* pada kolistin (57,1%), asam nalidiksat (21,4%), amoksilin (14,3%) serta sefotaksim (7,1%). Pada penelitian ini *E. coli* memiliki ditemukan sensitif yang cukup tinggi pada sefotaksim (92,86%).

Eritromisin termasuk dalam golongan antibiotika makrolida, sedangkan streptomisin termasuk dalam golongan aminoglikosida. Tingginya jumlah *E. coli* yang tahan pada antibiotika eritromisin, streptomisin, tetrasiklin dan oksitetrasiklin menunjukkan adanya penggunaan antibiotika pada peternakan ayam dalam waktu yang lama dan tidak bijaksana baik untuk tujuan pengobatan ataupun sebagai *growth promoters* yang dicampur dalam pakan dan air minum. Menurut Bahri *et al.* (2010), sebagian besar pakan komersial yang beredar di Indonesia mengandung antibiotika di antaranya dari golongan makrolida, aminoglikosida, dan tetrasiklin.

Tabel 1. Tingkat kepekaan 14 kultur bakteri *E. coli* terhadap antibiotik

Antibiotik	Konsentrasi (µg)	Standar Interpretasi diameter zona hambat (mm)			Isolat <i>E.coli</i> (n=19)		
		S	I	R	S (%)	I (%)	R (%)
Tetrasiklin (TE)	30	≥15	12 - 14	≤11	5 (35,7%)	0 (0%)	9 (64,3%)
Oksitetrasiklin (OT)	30	> 19	12 - 14	≤11	5 (35,7%)	0 (0%)	9 (64,3%)
Amoksilin (AML)	20/10	≥18	14 - 17	≤13	2 (14,2%)	2 (14,3%)	10(71,4%)
Streptomisin (S)	10	≥15	12 - 14	≤11	1 (,1%)	0 (0%)	13(92,9%)
Eritromisin (E)	15	≥23	14 - 22	≤13	0 (0%)	0 (0%)	14 (100%)
Kolistin (CT)	10	≥ 14	12 - 13	≤ 11	1 (7,1%)	8 (57,1%)	5 (35,7%)
Asam Nalidiksilat(NA)	30	≥19	14 - 18	≤13	3 (21,4%)	3 (21,4%)	9 (64,3%)
Sefotaksim (CTX)	30	≥26	23 - 25	≤22	13(92,9%)	1 (7,1%)	0 (0%)



Gambar 1. Tingkat kepekaan 14 kultur bakteri *E. coli* terhadap antibiotika tetrasiklin (TE), oksitetrasiklin (OT), amoksilin (AML), streptomisin (S), eritromisin (E), kolistin (CT), asam nalidiksilat (NA), sefotaksim (CTX)

Penelitian yang dilaporkan Mukti *et al.* (2017) di Aceh menyatakan adanya sifat tahan terhadap *E. coli* daging ayam broiler pedaging terhadap antibiotika eritromisin, streptomisin dan ampisilin (100%), gentamisin dan tetrasiklin (50%). Hasil serupa juga dinyatakan oleh Odelowo *et al.* (2014) yaitu adanya resistensi *E. coli* terhadap antibiotika tetrasiklin (81%), streptomisin (56%), ampisilin (36%) serta asam nalidiksilat (25%) pada peternakan ayam di Nigeria.

Kolistin sulfat termasuk dalam golongan antibiotika polimiksin yang ditemukan pada tahun 1949 (Morales *et al.*, 2012). Kolistin mulai digunakan di peternakan mulai tahun 1950 dengan indikasi utama untuk pengobatan

infeksi yang disebabkan oleh *Enterobacteriaceae*. Hasil penelitian adanya resistensi *E. coli* terhadap kolistin serupa dengan yang dilakukan Perrin *et al.* (2016) di Prancis menyatakan bahwa ketahanan *E. coli* terhadap kolistin (1,8%) pada peternakan ayam broiler pedaging dan (5,9%) pada kalkun.

Hasil pengamatan inkubasi selama 24 jam diketahui dari lima isolat aktinomisetes yang digunakan terdapat dua isolat yang menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu Sp 47 dan Sp 413. Berdasarkan rata-rata daya hambat yang dihasilkan Sp 413 mempunyai daya hambat yang lebih baik daripada Sp 47 karena dapat menghambat semua isolat yang digunakan (100%) bila

Tabel 2. Hasil pengujian daya hambat aktinomisetes tahap kedua

Kode sampel	Rataan daya hambat (mm) ± standar deviasi	
	Sp 413	Sp 47
RJ 1	10,5±0,7	7,5±0,0
RJ 2	8,5±0,0	8,5±0,0
RJ 3	13,5±0,7	10,5±0,7
RJ 4	13,5±0,0	7,5±0,0
RJ 5	10,0±0,0	0
RJ 6	12,5±0,7	0
RJ 1b	9,5±0,0	0
C1	7,5±0,7	7,5±0,0
C2	9,5±0,0	9,5±0,7
C4	12,5±0,7	8,5±0,0
C1a	8,5±0,0	0
W3	8,5±0,7	7,5±0,0
U	10,5±0,7	0
WW	9,0±0,0	7,5±0,7

n = 2 ulangan

dibandingkan dengan Sp 47 yang hanya dapat menghambat empat isolat *E. coli* yang tahan antibiotik dari 14 isolat yang digunakan (28,57%) yaitu isolat C1a, W3, U, dan WW (Tabel 1).

Hasil pengujian daya hambat aktinomisetes tahap pertama diketahui terdapat dua kultur aktinomisetes yang menunjukkan daya hambat terhadap isolat *E. coli* tahan antibiotik yaitu Sp 413 dan Sp 47. Kedua kultur aktinomisetes

tersebut kemudian dilakukan ekstraksi dengan pelarut etil asetat untuk memperoleh senyawa antibakteri yang akan dapat digunakan pada pengujian daya hambat kedua. Berdasarkan laporan penelitian sebelumnya oleh, (Sulistiyani dan Akbar (2014) dinyatakan bahwa proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat karena etil asetat bersifat semi polar dan mampu mengambil metabolit sekunder aktinomisetes dalam jumlah yang banyak.

Uji daya hambat aktinomisetes tahap kedua dari kultur Sp 413 menunjukkan adanya penghambatan pada semua isolat *E. coli* tahan antibiotik (100%), dengan diameter hambatan mulai 7,5 mm sampai dengan 13,5 mm. Kultur Sp 47 hanya dapat menghambat sembilan isolat (64,3%), dengan diameter hambatan mulai 7,5 mm sampai dengan 10,5 mm. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2. Pada pengujian daya hambat tahap kedua etil asetat digunakan sebagai kontrol negatif, dan tidak menunjukkan adanya daya hambat. Penghambatan ini diasumsikan akibat adanya senyawa antibakteri yang diskresikan oleh aktinomisetes pada media agar sebagai hasil metabolit sekunder dari aktinomisetes. Semakin banyak senyawa antibakteri yang disekresikan, semakin besar daya hambatnya (Susilowati *et al.*, 2007). Sekitar 7.600 senyawa metabolik sekunder yang diproduksi oleh Aktinomisetes dari genus *Streptomyces* merupakan antibakteri yang kuat (Sharma *et al.*, 2014). Berdasarkan rataan

Tabel 3. Hasil pengujian daya hambat aktinomisetes tahap pertama

Kode Sampel	Rataan daya hambat (mm) ± standar deviasi				
	Sp 3	Sp 44	Sp 46	Sp 47	ISp 413
RJ 1	0	0	0	0	13,6±0,3
RJ 2	0	0	0	0	13,2±0,3
RJ 3	0	0	0	0	13,6±0,1
RJ 4	0	0	0	0	14,8±0,3
RJ 5	0	0	0	0	17,0±0,0
RJ 6	0	0	0	0	13,3±0,3
RJ 1b	0	0	0	0	13,2±0,3
C1	0	0	0	0	15,9±0,1
C2	0	0	0	0	15,7±0,2
C4	0	0	0	0	13,1±0,1
C1a	0	0	0	9,5±0,0	14,2±0,3
W3	0	0	0	10,5± 0,7	14,5±0,7
U	0	0	0	9,3± 0,3	15,9±0,1
WW	0	0	0	8,0± 0,0	14,5±0,0

n = 2 ulangan

daya hambat yang dihasilkan Sp 413 dikategorikan mempunyai daya hambat yang kuat dan Sp 47 mempunyai daya hambat lemah.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian terdapat dua isolat aktinomisetes yang menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *E. coli* yaitu *Streptomyces* 47 (Sp 47) dan *Streptomyces* 413 (Sp 413). Berdasarkan rata-rata daya hambat yang dihasilkan pada pengujian daya hambat yang kedua *Streptomyces* 413 dikategorikan mempunyai daya hambat yang kuat dan *Streptomyces* 47 mempunyai daya hambat lemah. Daya hambat yang dihasilkan tersebut menunjukkan isolat *Streptomyces* 413 mensekresikan metabolit sekunder yang berpotensi untuk dapat digunakan sebagai penghasil antibakteri.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih atas bantuan fungsional medik veteriner dan paramedik veteriner di Balai Besar Karantina Pertanian Surabaya, serta bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbassi MS, Kilani H, Zouari M, Mansouri R, Oussama EF, Hammami S, Ben N. 2017. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates from healthy poultry, bovine and ovine in Tunisia: A Real Animal and Human Health Threat. *J Clin Microbiol Biochem Technol* 3(2): 019-023
- Akbar A, Sitara U, Khan SA, Ali I, Khan MI, Phadungchob, Anal AK. 2014. Presence of *Escherichia coli* in poultry meat: A potential food safety threat. *Intl Food Research Journal* 21(3): 941-945
- Bahri S, Indraningsih, Widiastuti R, Murdiati TB, Maryam R. 2010. Keamanan pangan asal ternak: Suatu tuntutan di era perdagangan bebas. *Wartazoa* 12(2): 47-64.
- Bhaskara IBM, Budiasa K, Tono PG. 2012. Uji kepekaan *Escherichia coli* sebagai penyebab kolibasilosis pada babi muda terhadap antibiotika oksitetrasiklin, streptomisin, kanamisin dan gentamisin. *Indonesia Medicus Veterinus* 1(2): 186-201
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2015. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-second Informational Supplement. Wayne (US): Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate of Microbiological antibiotic assay. *ASM*. 22(4): 659-665.
- Dewantoro GI, Adiningsih MW, Purnawarman T, Sunartatie T, Afiff U. 2009. Tingkat prevalensi *Escherichia coli* dalam daging ayam beku yang dilalulintaskan melalui pelabuhan penyeberangan Merak. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 14(3): 211-215
- Grace D. 2015. Review of evidence on antimicrobial resistance and animal agriculture in developing countries. International Livestock Research Institute (ILRI). https://a4nh.cgiar.org/files/2015/06/EoD_Consultancy_June15_Ag_Related_AMR.pdf [8 Juni 2018].
- Jahantigh M, Dizaji RE. 2015. Antimicrobial drug resistance pater of *Escherichia coli* isolated from chicken farms with colibacillosis infection. *OJMM* 5: 159-162.
- Martin SW. 1987. *Veterinary Epidemiology. Principle and Methods*. 1st Ed. Iowa, USA. Iowa State University Pr. Hlm. 35-38
- Matulesy DN. 2011. Analisis mikrobiologis karkas ayam broiler beku yang beredar di pasar tradisional Halmahera Utara. *J Agroforestri* 6(1): 65-72
- Morales AS, Araujo AF, Moura-Gomes CV, Costa ATR, Rodrique DP, Ferreira TSP, Lima Filshner PHN, Felizardo MR, Moreno AM. 2012. Colistin resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enteric* strains isolated from swine in Brazil. *The Sci World J*. Volume 2012 Article ID 109795.
- Mukti A, Rastina, Harris A, Ismail, Darniati, Masyitha. 2017. Resistensi *Escherichia coli* terhadap antibiotik dari daging ayam broiler di Pasar Rukoh. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner* 1(3): 492-498
- Nurkanto A, Julistiono H, Agusta A, Sjamsuridzal W. 2016. Screening antimicrobial activity of aktinomycetes isolated from Raja Ampat, West Papua, Indonesia. *Makara J Sci*. (16)1:21-26
- Odelowo O, Fagade O, Agers Y. 2014. Antibiotic resistance and resistance genes in

- Escherichia coli* from poultry farms, Southwest Nigeria. *J Infect Dev Ctries* 8(9): 1103-1112.
- Perrin A, Bruneau M, Houee P, Deleurme K, Legrandois P, Poirier C, Soumet C, Sanders P. 2016. Prevalence of mcr-1 in commensal *Escherichia coli* from French livestock, 2007 to 2014. <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.6.30135>. [19 Mei 2018].
- Sharma M, Dangi P, Choudhary M. 2014. Actinomycetes: Source, identification, and their application. *Int J Curr Microbiol App Sci* 3(2): 801-832.
- Sulistiyani TR, Widhyastuti N. 2011. Isolasi, seleksi, dan identifikasi molekuler aktinomisetes penghasil antibiotik. *Widyaiset* 14(3): 541-548.
- Sulistiyani N, Akbar AN. 2014. Aktivitas isolat *Actinomycetes* dari rumput laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai penghasil antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *JIVI* 12(1): 1-9.
- Susilowati DN, Hastiti RD, Yuniarti E. 2007. Isolasi dan karakterisasi Aktinomisetes penghasil antibakteri enteropatogen *Escherichia coli* K1.1, *Pseudomonas pseudomallei* 02 05, dan *Listeria monocytogenes* 5407. 2007. *J AgriBiogen* 3(1): 15-23
- Ventola CL. 2015. The antibiotic resistance crisis. *JPT* 40(4): 277-283
- Wibowo MH, Nugroho WS, Asmara W. 2011. Profil plasmid *Escherichia coli* resisten terhadap beberapa antibiotika yang diisolasi dari peternakan ayam komersial. *J Sains Vet* 29(1):43-50
- Wahyuni DS. 2014. Skrining Aktivitas Isolat Aktinomisetes Tanah Asal Indonesia Penghasil Antibakteri. [Tesis]. Bogor, ID. Institut Pertanian Bogor.