

Keberadaan *Escherichia coli* Extended Spectrum β -lactamase Resistan Antibiotik di Peternakan Sapi Perah Cijeruk, Bogor

(OCCURANCE OF EXTENDED SPECTRUM β -LACTAMASE-PRODUCING *ESCHERICHIA COLI* IN CIJERUK DAIRY HERDS, BOGOR)

**Herwin Pisestyani*, Denny Widaya Lukman,
Hadri Latif, Mirnawati Sudarwanto**

Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner,
Divisi Kesehatan Masyarakat Veteriner dan Epidemiologi
Sekolah Kedokteran Hewan dan Biomedis,
Institut Pertanian Bogor
Jl Agathis, Kampus IPB Deamaga,
Dramaga, Bogor, Jawa Barat Indonesia 16880
*Email: herwinpi@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

Contamination of Extended spectrum-beta lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* in milk can cause public health problems. The misuse of antibiotics in dairy has implications for the emergence of multi-resistant bacteria that can infect humans through food (foodborne diseases). The ESBL producing *E. coli* is resistant to β -lactam antibiotics (including penicillins and 3rd and 4th derivatives of cephalosporins). This study aimed to analyze the phenotype of antibiotic-resistant ESBL-producing *E. coli* from livestock, farmer, dairy cows, milk, and pasteurized milk. The research was conducted on a dairy farm in Cijeruk District, Bogor. The method used was the ESBL EC tricycle for phenotype confirmation consisting of culture on tryptone bile x-glucuronide (TBX) agar and MacConkey agar (MCA) with the addition of the cefotaxime antibiotic 4 μ g/mL for the presumption of ESBL-producing *E. coli* followed by confirmation of ESBL producing *E. coli* with indol biochemical tests with sulfite indole motility (SIM) and double disk diffusion test (DDST) on Mueller Hinton agar (MHA). The results from this study showed that ESBL producing *E. coli* was not found in water, effluent, milker hand swabs, teat swabs, and milk from the individual cows. ESBL producing *E. coli* was identified from fresh milk (2/10) and pasteurized milk (2/10) on the same farm. ESBL-producing *E. coli* were resistant to eight antibiotics (ampicillin, cefotaxime, ceftazidime, cefpodoxime, cephalothin, streptomycin, azithromycin, enrofloxacin). Multidrug-resistant ESBL-producing *E. coli* is one of the foodborne diseases that pose a health threat to the community.

Keywords: antibiotic resistant; *E. coli* ESBL; milk, teat swab; milker hand swab

ABSTRAK

Kontaminasi *Echerichia. coli* penghasil *Extended spectrum β -lactamase* (ESBL) pada susu dapat menyebabkan masalah kesehatan masyarakat. Penggunaan antibiotik pada hewan ternak yang tidak bijak berimplikasi pada kemunculan bentuk baru dari bakteri multi-resistan yang dapat menginfeksi manusia melalui makanan (*foodborne diseases*). Bakteri *E. coli* ESBL resistan terhadap antibiotik β -laktam (termasuk penisilin dan turunan ke-3 dan ke-4 dari sefalosporin). Penelitian ini bertujuan menganalisis fenotipe *E. coli* ESBL yang resistan antibiotik mulai dari lingkungan peternakan, pemerah, sapi perah, susu yang dihasilkan dan susu pasteurisasi yang dijual oleh masyarakat di sekitar peternakan. Penelitian dilaksanakan pada peternakan sapi perah di Kecamatan Cijeruk Kabupaten Bogor. ESBL *Ec Tricycle* merupakan metode yang digunakan

untuk analisis fenotipe, terdiri atas pengujian presumtif atau praduga menggunakan media *tryptone bile x-glucuronide* (TBX) dan *MacConkey agar* (MCA) yang ditambahkan antibiotik cefotaxim 4 µg/mL serta konfirmasi *E. coli* ESBL. Pengujian biokimia indol pada *agar sulfite indole motility* (SIM) dan *double disk diffusion test* pada *Mueller Hinton agar* (MHA) untuk mengidentifikasi *E. coli* ESBL. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini, yaitu tidak ditemukan *E. coli* ESBL pada sampel air, air limbah, *swab* tangan pemerah, *swab* puting, dan susu individu. Bakteri *E. coli* penghasil ESBL teridentifikasi dari sampel yang berasal dari susu kandang (2/10) dan susu pasteurisasi (2/10) yang berasal dari peternakan yang sama. Bakteri *E. coli* ESBL kemungkinan berasal dari susu sapi lainnya dalam satu kandang yang tidak terpilih sebagai sampel dalam penelitian ini dan kontaminasi dari peralatan yang tidak dibersihkan dengan baik maupun dari peternak atau pengolah susu pasteurisasi. Bakteri *E. coli* ESBL telah resistan terhadap delapan jenis antibiotik (ampisilin, seftaksim, seftazidim, sefopodoksim, sefalotin, streptomisin, azitromisin, enrofloksasin). Bakteri *E. coli* ESBL yang *multidrug resistant* merupakan salah penyakit karena agen terbawa oleh makanan (*foodborne diseases*) yang merupakan ancaman kesehatan bagi masyarakat.

Kata kunci: *Escherichia coli* ESBL; resistansi antibiotik; *swab* tangan[*swab* puting] susu segar

PENDAHULUAN

Penggunaan sefalosporin generasi ketiga di awal tahun 1980-an dianggap sebagai suatu terobosan besar dalam melawan peningkatan prevalensi resistansi bakteri terhadap antibiotik yang dimediasi enzim *beta laktamase* (Paterson dan Bonomo, 2015). Paparan terus menerus dari antibiotik beta laktam dalam jumlah besar menginduksi produksi serta mutasi enzim *beta laktamase* pada bakteri-bakteri tersebut. Mutasi ini memperluas aktivitas enzim *beta laktamase* sehingga dapat menghidrolisis antibiotik beta laktam yang baru dikembangkan. Enzim ini dikenal sebagai *extended spectrum beta lactamases* (ESBL) (Shaikh *et al.*, 2015).

Enzim ESBL pertama kali ditemukan pada 1983, sejak saat itu bakteri Gram negatif yang memproduksi ESBL muncul sebagai ancaman besar bagi seluruh dunia. Enzim ESBL dapat menghidrolisis antibiotik beta laktam yang mengandung grup oxyimino seperti sefalosporin generasi ketiga dan aztreonam. Enzim ini dapat dihambat oleh penghambat *beta laktamase* seperti asam klavulanat, sulbaktam, dan tazobaktam. Gen pembawa ESBL seperti TEM-1, TEM-2, atau SHV-1 didapat dari mutasi yang mengubah konfigurasi asam amino di sekitar daerah yang aktif dari *beta laktamase* tersebut. Enzim ESBL yang bukan turunan TEM atau SHV telah banyak ditemukan (Paterson *et al.*, 2015). Jumlah varian ESBL terus meningkat mencapai 300 varian ESBL berbeda (Goyal *et al.*, 2009). Enzim ESBL biasanya dimediasi oleh plasmid. Enzim ini sering ditemukan pada bakteri *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* dan basil Gram negatif lainnya (Goyal *et al.*, 2009). Bakteri yang memproduksi

ESBL biasanya berhubungan dengan resistansi terhadap beberapa antibiotik lainnya seperti kuinolon dan aminoglikosida, karena gen yang terlibat pada mekanisme resistansi ini biasanya terletak pada plasmid yang sama dengan gen ESBL (Paterson *et al.*, 2015).

Sejumlah penelitian telah melaporkan resistansi bakteri penghasil ESBL terhadap berbagai antibiotik. Penelitian di Indonesia dari susu asal peternakan sapi perah di Jawa Barat menunjukkan, tujuh dari 80 peternakan positif *Klebsiella pneumoniae* ESBL (Sudarwanto *et al.*, 2015). Penelitian *E. coli* ESBL dari feses sapi potong di RPH-R Kota Bogor adalah sebesar 15,8% dan setelah diuji ke tingkat molekuler menggunakan *Polymerase Chain Reaction* diperoleh 8,6% positif *E. coli* ESBL tipe CTX-M (Sudarwanto *et al.*, 2016). Bakteri *E. coli* ESBL juga ditemukan pada feses ayam pedaging di sentra pemotongan ayam Kota Bogor sebanyak 6,0%, setelah diuji ke tingkat molekuler diperoleh *E. coli* ESBL tipe CTX-M-1 dan CTX-M-55 (Lukman *et al.*, 2017).

Penelitian kualitas mikrob dalam lingkungan peternakan sapi perah penting dilakukan, karena lingkungan dapat memengaruhi kesehatan sapi perah dan juga kualitas susu yang dihasilkan. Susu yang tercemar *E. coli* ESBL dapat menyebabkan gangguan kesehatan konsumen yang serius. Upaya mencegah timbulnya dan meluasnya bakteri resistan di peternakan sapi perah, maka penting untuk mewaspadai organisme yang memproduksi ESBL, salah satunya dengan mengetahui keberadaan *E. coli* ESBL pada ternak, pekerja atau peternak dan juga lingkungan peternakan.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan dari bulan Agustus sampai dengan Oktober 2021. Sampel berasal dari peternakan sapi perah di Kecamatan Cijeruk, Kabupaten Bogor. Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif dengan teknik penarikan contoh peternakan dilakukan secara sampel acak sederhana atau *simple random sampling*. Sepuluh peternakan di Kecamatan Cijeruk dipilih sebagai sampel penelitian. Sampel *swab* puting sebanyak dua ekor, satu sampel air yang digunakan untuk mencuci peralatan, satu sampel air limbah, sampel *swab* tangan kanan dari satu orang pemerah, sampel susu individu dari ke-2 ekor sapi perah, satu sampel susu kandang dan satu sampel susu pasteurisasi diambil dari masing-masing peternakan.

Analisis fenotipe mengacu pada pedoman ESBL *Ec Tricycle* (WHO 2019), yaitu pengujian menggunakan metode isolasi, identifikasi, dan enumerasi *E. coli* berdasarkan metode ISO 16649-2:2001 (ISO 2001) dengan beberapa modifikasi. Metode tersebut dikombinasikan dengan MCA dan penambahan CTX 4 µg/mL untuk seleksi dan purifikasi koloni terduga *E. coli* serta konfirmasi *E. coli* dan *E. coli* ESBL dengan uji biokimia indol dan uji *double disk diffusion* berdasarkan metode *clinical and laboratory standards institute* (CLSI) M100 (CLSI 2021).

Semua sampel air dan limbah diambil 3 mL untuk difilter dengan 0,45 µm membran filter steril. Membran filter dipindahkan ke cawan petri berisi agar TBX untuk koloni terduga *E. coli* dan agar TBX-CTX untuk terduga *E. coli* ESBL.

Sampel *swab* tangan pemerah, puting, susu individu, susu kandang dan susu pasteurisasi diambil satu mL untuk dimasukkan ke dalam cawan petri. Selanjutnya TBX agar dituang untuk perhitungan koloni terduga *E. coli* dan agar TBX-CTX untuk terduga *E. coli* ESBL.

Selanjutnya dengan prosedur yang sama cawan petri diinkubasi dengan suhu 36 ± 1°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, dipilih koloni dari agar TBX dan TBX-CTX, dipindahkan menggunakan *ose* dan diinokulasikan ke agar MCA untuk koloni terduga *E. coli* dan koloni terduga *E. coli* ESBL ke agar MCA-CTX, kemudian diinkubasi

dengan suhu 36 ± 1°C selama 18-24 jam. Koloni dari hasil inkubasi MCA yang positif terduga *E. coli* dipindahkan ke agar NA dan diinkubasi untuk memperbanyak koloni dengan suhu 36 ± 1°C selama 18-24 jam. Uji biokimia indol dilakukan dengan meneteskan reagen *kovacs* sebanyak 1 mL pada media *tryptone broth*. Hasil dikatakan positif apabila terbentuk cincin merah. Pembuatan stok isolat segera dilakukan dengan memindahkan koloni-koloni dari tiap sampel yang positif terkonfirmasi *E. coli* ke media gliserol 10% dalam *cryotube*. Pembuatan isolat dilakukan secara *duplo* dan disimpan pada suhu -20°C di dalam *freezer*.

Konfirmasi *E. coli* ESBL dengan metode uji *Double Disk Diffusion* dilakukan pada koloni dengan hasil positif pada uji biokimia indol. Koloni diremajakan dan diinkubasi terlebih dahulu ke agar NA dengan suhu 36 ± 1°C selama 18-24 jam, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan suspensi dengan kekeruhan setara 0,5 McFarland dari koloni pada agar NA tersebut. Larutan suspensi diambil menggunakan *cotton swab* steril dan diratakan pada media MHA dan kertas cakram antibiotik (sefotaksim 30 µg, sefotaksim asam klavulanat 30 µg, seftazidim 30 µg dan seftazidim-asam klavulanat 30 µg) diletakkan di atas agar MHA secara berseberangan dan diinkubasi pada suhu 35 ± 2°C selama 24 jam. Hal yang sama juga dilakukan pada kontrol positif *E. coli* NCSU 10455, kontrol negatif ESBL *E. coli* ATCC 25922, dan kontrol positif ESBL non *E. coli*, *Klebsiella pneumonia* ATCC 70063. Hasil dikatakan positif ESBL apabila zona hambat antara sefotaksim dan sefotaksim asam klavulanat serta seftazidim dan seftazidim asam klavulanat lebih besar dari 5 mm (CLSI 2021).

Bakteri *E. coli* ESBL diuji resistansinya terhadap 14 jenis antibiotik, yaitu ampicilin (AMP), amoksisilin-asam klavulanat (AMC), sefotaksim (CTX), seftazidim (CAZ), sefpodoksime (CPD), sefalotin (KF), gentamisin (CN), streptomisin (S), azitromisin (AZM), tetrakisiklin (TE), doksisiklin (DO), asam nalidiksat (NA), enrofloksasin (ENR), trimetoprim-sulfametoksazol (SXT). *E. coli* strain ATCC 25922 sebagai kontrol negatif dan *Klebsiella pneumoniae* strain ATCC 700603 sebagai kontrol positif digunakan untuk melihat performa terhadap deteksi agen penghasil ESBL dan sebagai kontrol pada setiap uji resistansi terhadap antibiotik.

Tabel 1 Distribusi *Escherichia coli* dan *E. coli Extended spectrum beta lactamase* (ESBL) positif berdasarkan jenis sampel

Jenis sampel	Jumlah sampel	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> ESBL positif
Air	10	0 (0%)	0 (0%)
Air Limbah	10	8 (80%)	0 (0%)
Swab tangan pemerah	10	3 (30%)	0 (0%)
Swab puting sapi perah	20	9 (45%)	0 (0%)
Susu individu	20	3 (30%)	0 (0%)
Susu kandang	10	2 (20%)	2 (20%)
Susu pasteurisasi	10	2 (20%)	2 (20%)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Distribusi *E. coli* dan *E. coli* ESBL dalam Sampel Susu dan Lingkungan Peternakan

Penelitian kualitas mikrob dalam lingkungan peternakan sapi perah penting dilakukan, karena lingkungan dapat memengaruhi kesehatan sapi perah serta kualitas susu yang dihasilkan. Penelitian ini tidak menemukan *E. coli* pada air dari semua peternakan. Bakteri *E. coli* ditemukan pada air limbah, swab puting sapi perah, swab tangan pemerah, susu individu, susu kandang dan susu pasteurisasi (Tabel 1).

Hasil penelitian ini diperoleh *E. coli* positif dari sampel lingkungan, individu sapi perah dan pemerah pada peternakan sapi perah di Cijeruk, secara berurutan dari yang paling banyak sampai yang paling sedikit, yaitu air limbah (80%), swab tangan pemerah (30%), swab puting sapi perah (45%), dan air (0%). Bakteri *E. coli* positif ditemukan dalam sampel susu secara berurutan yaitu susu individu (30%), susu kandang (20%), dan susu pasteurisasi (20%) (Tabel 1). Pada Tabel 1, tidak ditemukan *E. coli* ESBL pada sampel lingkungan dan pekerja. Bakteri *E. coli* ESBL hanya ditemukan pada sampel susu kandang dan susu pasteurisasi yang berasal dari dua peternakan yang sama yaitu masing-masing sebesar 20% (Tabel 1).

Penelitian Welde *et al.* (2020) menemukan kejadian 60% (9/15) isolat *E. coli* O157:H7 dari sampel swab tangan pemerah di peternakan sapi perah di Kota Modjo, Regio Oromia, Addis Ababa, Ethiopia. Penelitian Adzitey *et al.* (2016) tentang *E. coli* pada tangan pemerah di peternakan sapi perah di Nyankpala, wilayah Utara Ghana mendapatkan isolat *E. coli* dari sampel susu mentah dan swab tangan pemerah sebesar 40,38% (42/104 sampel). Dari sampel tersebut, berhasil diisolasi *E. coli* dari tangan pemerah sebanyak 19,23% (5/26 sampel) pada tangan kiri dan 23,08% (6/26 sampel) pada tangan kanan. Penelitian Vanitha *et al.* (2018)

mendapatkan isolat *enterohemorrhagic E. coli* dari peternakan sapi pada suatu koperasi koperasi susu di Thrissur, Negara Bagian Kerala, India, terutama dari cucian tangan pemerah 11,11% (4/36 sampel).

Pengambilan sampel pada penelitian ini dilakukan setelah pemerah mencuci tangan namun belum melakukan pemerahan. Menurut Navab-Daneshmand *et al.* (2018), kotoran dan pasir dapat berkontribusi terhadap tingginya kontaminasi *E. coli* secara substansial. Kegiatan rumah tangga seperti membersihkan piring, menyiapkan makanan, dan menyapu dapat menyebabkan kontaminasi *E. coli* pada tangan. Pengambilan sampel swab puting dilakukan setelah sapi dimandikan dan sebelum pemerahan. Penelitian Fahim *et al.* (2019) mendapatkan isolat *E. coli* sebanyak 12% pada puting depan dan 16% pada puting belakang pada peternakan sapi perah di Provinsi Cairo, Giza, dan El-Ismailia, Mesir. Sementara itu Vanitha *et al.* (2018) mendapatkan isolat *enterohemorrhagic E. coli* pada peternakan sapi di koperasi di Thrissur, Kerala, India dari swab ambing 16,67% (10/60 sampel).

Keberadaan *E. coli* di tangan pemerah dapat disebabkan kontak antara tangan pemerah dengan peralatan kandang, sedangkan pada permukaan puting bisa diakibatkan adanya kontaminasi pada saat sapi melakukan urinasi atau defekasi setelah dimandikan. Kulit puting yang mengandung bakteri patogen dari lingkungan disebabkan oleh praktek higiene di peternakan (Hohmann *et al.*, 2020). Menurut Chambers (2002), alas kandang dan feses menjadi sumber utama kontaminasi *E. coli*. Bakteri pada puting dapat masuk ke dalam jaringan intramamari melalui saluran puting yang masih terbuka setelah pemerahan. Pembersihan puting yang baik sebelum pemerahan dan desinfeksi puting setelah pemerahan membantu mengurangi pencemaran bakteri selama pemerahan dan mematikan bakteri patogen yang

tertinggal pada kulit puting setelah pemerahan. Vanitha *et al.* (2018) menyatakan, faktor risiko utama terkait kejadian *Enterohaemorrhagic Esherichia coli* (EHEC) pada susu mentah adalah berkaitan dengan kesehatan hewan, air yang tercemar, tanah, ambing, peralatan susu yang tidak higienis, dan tangan pemerah.

Pencemaran *E. coli* juga dapat berasal dari sumber air yang digunakan untuk berbagai kegiatan di kandang. Namun, dalam penelitian ini tidak ditemukan *E. coli* pada sampel air dari semua peternakan. Bakteri *E. coli* merupakan bakteri indikator kualitas air dan keberadaannya di dalam air mengindikasikan bahwa air tersebut terkontaminasi oleh fekes, yang kemungkinan juga mengandung mikroba enterik patogen lainnya. Bakteri *E. coli* dipilih karena bakteri ini merupakan indikator dari sanitasi dan lingkungan yang kurang bersih. Menurut World Health Organization maupun Kementerian Kesehatan, bakteri *Coliform* dan *E. coli* merupakan standar utama untuk uji mikrobiologi terhadap air minum sekaligus menjadi penyebab terjadinya seringan infeksi saluran gastrointestinal (Kepmenkes 2002). Air yang harus diminum adalah air yang sehat yang memenuhi persyaratan bakteriologi, kimia, radioaktif dan fisik berdasarkan Permenkes RI No: 492/MENKES/PER/IV/2010 tentang syarat-syarat dan pengawasan kualitas air bersih yang meliputi persyaratan fisik yaitu tidak berbau, tidak berwarna dan tidak berasa, untuk nilai *Most Probable Number* (MPN) *Coliform* yaitu 0/100 mL (Kemenkes 2010). Telah diketahui, air merupakan tempat bagi kolonisasi berbagai jenis mikroba seperti bakteri, kapang dan maupun khamir.

Bakteri *E. coli* ditemukan dalam air limbah peternakan sapi perah. Limbah cair hasil aktivitas pemeliharaan sapi dapat menjadi sumber infeksi yang sulit diobati pada manusia dan hewan. Manajemen pengaturan limbah sapi yang kurang memadai dapat menjadi penyebab adanya pencemaran air (Sartika *et al.*, 2005). Terlebih lokasi kandang pada Peternakan sapi perah di Cijeruk berada dalam jarak kurang dari delapan meter dengan rumah penduduk dengan drainase sempit menyebabkan limbah langsung disalurkan ke saluran utama menuju tempat penampungan limbah umum (Anggraeni dan Mariana, 2016).

Terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi kontaminasi bakteri *E. coli* dalam susu segar. Berdasarkan pengamatan lapang, pembersihan kandang dan sapi perah sebelum pemerahan yang kurang baik dapat

meningkatkan risiko kontaminasi *E. coli* pada susu segar. Bakteri *E. coli* berasal dari fekes sapi karena saluran pencernaan hewan sehat merupakan reservoir bagi *E. coli* (Andriani 2005). Praktek higiene pemerah seperti tidak mencuci tangan menggunakan sabun setelah buang air kecil dan besar, juga berperan sebagai determinan. Berdasarkan penelitian Rahmawati (2018), terdapat sampel susu dan *swab* tangan yang memiliki hasil sama-sama positif *E. coli*. Hal ini menunjukkan terdapat hubungan antara kebersihan tangan pemerah dengan keberadaan *E. coli* dalam susu segar. Bakteri *E. coli* dalam susu merupakan indikator pencemaran fekal pada susu dan peralatan susu. Pencemaran susu oleh *E. coli* dapat berasal dari kontak langsung dengan fekes, air tercemar, dan tangan pemerah. Keberadaan *E. coli* merupakan indikator higiene yang buruk dan praktek sanitasi yang buruk selama pemerahan dan penanganan susu (Welde *et al.*, 2020).

Penelitian ini menemukan *E. coli* ESBL pada sampel susu kandang dan susu pasteurisasi dari peternakan yang sama (Tabel 1). Hasil perahan dari masing-masing individu sapi dalam satu kandang dikumpulkan dalam *milk can* kemudian dibawa ke tempat penampungan susu atau koperasi. Susu hasil perahan dalam satu kandang selanjutnya dijadikan sampel kandang. Ditemukannya *E. coli* ESBL dalam sampel susu kandang kemungkinan dapat berasal dari sapi lainnya yang tidak terpilih sebagai sampel susu individu. Peralatan perah yang tidak dibersihkan dengan baik dan benar, terutama yang berkontak dengan susu dapat menjadi salah satu sumber kontaminasi *E. coli* ESBL dalam susu kandang. Bakteri *E. coli* ESBL dari seekor sapi dapat menular ke sapi lainnya dalam satu kandang melalui tangan pemerah, peralatan, kain lap ataupun peralatan lainnya yang digunakan secara bersama sama.

Dalam penelitian ini, teknik pasteurisasi yang digunakan adalah *high temperature short time* (HTST), yaitu pemanasan susu pada suhu 75°C selama 15 detik. Teknik pasteurisasi HTST ternyata tidak mampu membunuh *E. coli* ESBL dalam susu sehingga masih ditemukan dalam penelitian ini. Pasteurisasi merupakan teknik pemanasan yang dapat membunuh mikroba patogen. Masih ditemukannya *E. coli* ESBL dalam susu pasteurisasi dapat disebabkan susu segar yang merupakan bahan baku utama memiliki jumlah *E. coli* ESBL yang melebihi ambang batas, sehingga pemanasan tidak mampu membunuh semua *E. coli* ESBL. Kualitas

mikrob dari susu segar sebagai bahan baku dari beberapa produk olahan susu sangat penting untuk dijaga di bawah ambang batas maksimum cemaran mikrob yang telah ditetapkan.

Extended spectrum beta lactamase adalah enzim yang mempunyai kemampuan untuk menghidrolisis antibiotik golongan penisillin, sefalosporin generasi satu, dua, dan tiga, serta golongan aztreonam kecuali sefamisin dan karbapenem. Enzim ESBL paling banyak dihasilkan oleh *Enterobacteriaceae* (terutama *E. coli*) dan *K. pneumoniae* (PHAC 2014). Enzim ESBL berasal dari β -laktamase yang bermutasi, sehingga menyebabkan peningkatan aktivitas enzimatik β -laktamase yang dapat menghidrolisis sefalosporin generasi ke-3 dan aztreonam (de Been *et al.*, 2014). Gen yang bertanggung jawab terhadap produksi enzim ESBL berpusat pada plasmid dan berkembang menjadi titik mutasi, sehingga terjadi perubahan konfigurasi bagian aktif dari gen yang asli dan dikenal sebagai β -laktamase (Umadevi *et al.*, 2011).

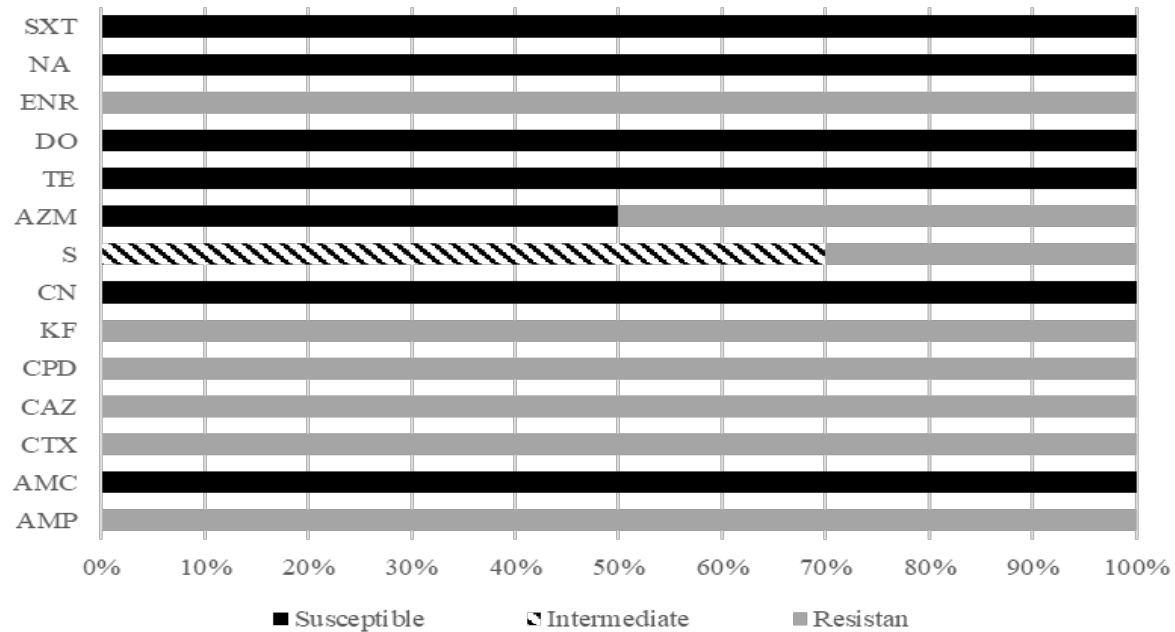
Distribusi Pola Resistansi Antibiotik *E. coli* ESBL

Sebanyak empat isolat *E. coli* ESBL dari susu kandang dan susu pasteurisasi yang berasal dari dua peternakan yang sama dilanjutkan pengujian resistansi antibiotik. Berdasarkan penelitian ini, pola resistansi antibiotik dijabarkan dalam Gambar 1.

Hampir semua isolat *E. coli* ESBL telah resistan terhadap delapan jenis antibiotik, yaitu ampisilin, sefotaksime, seftazidim, sefpodoksim, sefalotin, streptomisin, azitromisin, enrofloksasin dengan persentase antara 30-100% (Gambar 1). Semua isolat *E. coli* ESBL (100%) telah mengalami multi resistan antibiotik terhadap enam jenis antibiotik, yaitu ampisilin, sefotaksime, seftazidim, sefpodoksim, sefalotin, enrofloksasin (AMP-CTX-CAZ-CPD-KF-ENR) (Grafik 1).

Penelitian Imasari (2017), menemukan genotipe ESBL dari bakteri yang diisolasi dari feses di peternakan sapi perah di Surabaya, yaitu gen resistansi SHV (0%), TEM (12%), dan CTX-M (72%). Gen resistan antibiotik pada penduduk yang tinggal di sekitar peternakan sapi perah tersebut adalah SHV (25%), TEM (16,7%), CTX-M (66,7%). Penelitian tersebut menunjukkan keterkaitan erat penyebaran gen resistan antibiotik yang berkaitan dengan penularan melalui pencemaran lingkungan dan penularan antar hewan dan manusia.

Penyebaran gen resistan antibiotik ini pada susu dan hasil olahannya dimungkinkan karena genotipe ESBL dikode di dalam plasmid bakteri famili *Enterobacteriaceae* terutama *E. coli* dan *K. pneumoniae*. Gen yang dikode di dalam plasmid sangat mudah ditransmisikan ke antar spesies baik secara horisontal maupun vertikal. Penularan secara horisontal dilakukan dengan mekanisme transformasi, transduksi, dan



Gambar 1 Pola resistansi antibiotik *Escherichia coli* penghasil *Extended spectrum beta lactamase* (ESBL)

konjugasi, sedangkan penularan secara vertikal dilakukan dengan mekanisme pembelahan diri (Guenther *et al.*, 2011; Schaufler *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2019).

Bakteri *E. coli* sering dikaitkan dengan infeksi pernapasan pada sapi seperti pneumonia dan mastitis (Blum *et al.*, 2014; Oucheriah *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian Agustina *et al.* (2019), sebanyak 14% isolat *E. coli* yang diperoleh di unit usaha sapi perah di Sumatera Barat resistan terhadap antibiotik ampisilin. Menurut Ogunshe *et al.* (2019) kombinasi penisilin dan streptomisin sering digunakan pada ternak untuk kondisi inflamasi dan mastitis pada sapi perah. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Endriani *et al.* (2012), *E. coli* penyebab infeksi saluran kemih pada manusia memiliki resistansi yang tinggi terhadap antibiotik penisilin dan streptomisin. Menurut Srinivasan *et al.* (2007) resistansi yang tinggi dari ampisilin terhadap *E. coli* dapat disebabkan oleh ekspresi berlebihan dari gen resistan β -laktamase-ampisilin (*ampC*). Mutasi kromosom pada streptomisin terjadi dengan mudah selama masa pengobatan sehingga tingkat resistansi menjadi lebih tinggi (Prescott 2013).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Liu *et al.* (2018) isolat *E. coli* dari sampel susu penderita mastitis mengalami resistansi tinggi terhadap sefalotin dan seftazidim. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Hinthong *et al.* (2017) yang menunjukkan 18,2% isolat *E. coli* dari susu sapi penderita mastitis resistan terhadap antibiotik golongan cepheps. Resistansi terhadap sefalosporin generasi ketiga terjadi akibat produksi berlebih AmpC dan perluasan spektrum beta-laktamase. Oleh karena itu, penggunaan sefalosporin pada hewan pangan sangat dibatasi sebagai pertimbangan kesehatan masyarakat (Prescott 2013). Berdasarkan Ranjbar *et al.* (2018) strain *E. coli* yang diisolasi dari susu segar mengalami prevalensi tinggi terhadap antibiotik yang biasa digunakan manusia seperti sefotaksim, seftazidim dan siprofloksasin. Sefotaksim digunakan untuk pengobatan infeksi intra-abdominal pada manusia sementara seftazidim digunakan untuk mengobati infeksi saluran pernapasan bawah (Prescott 2013).

Siprofloksasin merupakan antibiotik yang telah diakui dapat mengobati infeksi pada saluran urinari, saluran napas, kulit dan gastrointestinal pada manusia (Thai *et al.*, 2021). Hal ini menunjukkan bahwa *E. coli* yang

diisolasi dari susu segar maupun produk susu ditransmisikan dari pemerah maupun penjamah makanan. Hal tersebut dapat menyebabkan *E. coli* yang telah resistan pada manusia ditransmisikan ke sapi perah dan menyebarkan sifat resistansinya pada bakteri lainnya. Hal ini sesuai dengan pendapat Poirel *et al.* (2018) bahwa *E. coli* berperan sebagai donor sekaligus penerima gen resistan, sehingga *E. coli* dianggap sebagai salah satu tantangan global utama baik untuk kesehatan hewan maupun kesehatan masyarakat.

Penelitian yang dilakukan Tadesse *et al.* (2012) terhadap *E. coli* yang diisolasi dari manusia dan pangan asal hewan di Amerika Serikat menunjukkan bahwa proporsi isolat dengan *Multi Drug Resistance* (MDR) lebih banyak ditemui pada hewan dibandingkan dengan manusia. Mayoritas infeksi saluran urinari dalam dunia kesehatan masyarakat disebabkan oleh *E. coli* yang telah mengalami MDR (Sabir *et al.* 2014). Sifat MDR pada *E. coli* bukan disebabkan oleh sifat kongenitalnya melainkan dipengaruhi oleh penggunaan obat. Menurut Piras *et al.* (2012) protein membran luar dan pompa *efflux* aktif membran berperan penting dalam mekanisme MDR. Resistansi *E. coli* melibatkan sistem pengaturan *quorum sensing* dalam mekanisme resistansinya. Menurut Ruiz dan Levy (2010) MDR yang terjadi pada *E. coli* dimediasi oleh gen *marA* yang diatur oleh berbagai gen dan stimulus secara kompleks. *E. coli* yang telah resistan terhadap beberapa jenis antibiotik (*multi-drug resistant*) telah meningkat dan meluas kemampuan resistansinya terhadap antibiotik berspektrum luas sehingga dapat menyebabkan kegagalan pengobatan terhadap infeksi bakteri tersebut yang mengakibatkan peningkatan tingkat mortalitas (Msolo *et al.*, 2016).

Cemaran *E. coli* ESBL dan gen resistan antibiotik yang ditemukan dalam penelitian ini kemungkinan dapat berdampak ke lingkungan termasuk ke masyarakat, karena gen resistan dapat ditransmisikan melalui pencemaran ke lingkungan. Bakteri *E. coli* ESBL dan gen resistan antibiotik secara tidak langsung dapat menular ke hewan dan manusia melalui higiene dan sanitasi serta rantai makanan yang tercemar. Bakteri *E. coli* ESBL dapat menjadi faktor risiko penyebab penyakit pada manusia dan hewan, bahkan dapat menjadi media zoonosis (Guenther *et al.*, 2011; Soraas *et al.*, 2013; Franz *et al.*, 2015). Berapa penyakit zoonotik yang mungkin ditularkan, di antaranya *shiga toxin*-

producing E. coli (STEC) dan *E. coli* O157:H7 (Wasteson 2001; García *et al.*, 2010). Bakteri tersebut memiliki gen resistan antibiotik yang mengkode dan menghasilkan enzim ESBL. Enzim tersebut dapat menghidrolisis antibiotik sehingga menurunkan efikasi pengobatan dan berdampak bagi kesehatan masyarakat.

Penemuan *E. coli* ESBL yang telah resistan terhadap beberapa antibiotik pada penelitian ini menunjukkan perlunya mitigasi risiko dan pencegahan pencemaran *E. coli* ESBL yang masuk maupun yang keluar ke lingkungan peternakan sapi perah dan ke konsumen. Beberapa hal yang dapat dilakukan antara lain, melakukan penanganan limbah, penerapan hygiene personal, dan sanitasi lingkungan yang lebih baik (Kardaś-Słoma *et al.*, 2020; Wadepohl *et al.*, 2020). Kebijakan dari pemerintah, khususnya berbagai instansi terkait lintas kementerian seperti kementerian kesehatan dan kementerian pertanian dapat membuat aturan ketat pembatasan penggunaan antibiotik dan pengawasan di lapangan untuk mengurangi penyalahgunaan pemakaian antibiotik (Humaida 2014).

SIMPULAN

Penelitian ini menemukan *E. coli* ESBL pada susu kandang dan susu pasteurisasi yang berasal dari dua peternakan yang sama. Semua isolat *E. coli* ESBL telah resistan terhadap delapan jenis antibiotik. Ditemukannya *E. coli* ESBL resistan antibiotik pada susu dan susu pasteurisasi adalah ancaman bagi kesehatan masyarakat karena merupakan salah satu penyakit bawaan makanan (*foodborne diseases*).

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dengan pihak-pihak yang terkait dalam penelitian ini”.

DAFTAR PUSTAKA

- Adzitey F, Saba CKS, Teye GA. 2016. Antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* isolated from milk and hands of milkers in Nyankpala community of Ghana. *Current Research in Dairy Science* 8: 6–11. doi: 10.3923/crds.2016.6.11.
- Andriani. 2005. *Escherichia coli* O157:H7 sebagai penyebab penyakit zoonosis. Bogor: Balai Penelitian Veteriner Bogor.
- Anggraeni A, Mariana E. 2016. Evaluasi aspek teknis pemeliharaan sapi perah menuju *good dairy farming practices* pada peternakan sapi perah rakyat Pondok Ranggon. *Jurnal Agripet*. 16(2): 90–96. doi:10.17969/agripet.v16i2.5162.
- Chambers JV. 2002. The microbiology of raw milk. Di dalam: Robinson RK, ed. *Dairy Microbiology Handbook*. Ed ke-3. New York (NY): John Wiley. Hlm. 39–85.
- [CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. 2021. *CLSI M100-ED31:2021 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, 31st Edition. [diakses 2021 Jan 31]. <http://em100.edaptivedocs.net/Login.aspx>.
- Endriani R, Andriani F, Alfina D. 2012. Pola resistansi bakteri penyebab infeksi saluran kemih (ISK) terhadap antibakteri di Pekanbaru. *Jurnal Natural Indonesia* 12(2): 130–135. doi: 10.31258/jnat.12.2.130-135.
- Fahim KM, Ismael E, Khalefab HS, Farage HS, Hamzad DA. 2019. Isolation and characterization of *E. coli* strains causing intramammary infections from dairy animals and wild birds. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 7(1): 61-70. doi: 10.1080/23144599.2019.1691378.
- Franz E, Veenman C, van Hoek AHA., Husman A de R, Blaak H. 2015. Pathogenic *Escherichia coli* producing Extended-Spectrum β -Lactamases isolated from surface water and wastewater. *Scientific Reports* 5(14372).
- de Been M, Lanza VF, de Toro M, Scharringa J, Dohmen W, Du Y, Hu J, Lei Y, Li N, Tooming-klunderud A, Heederik DJJ, Fluit AC, Bonten MJM, Willems RJJ, de la Cruz F, van Schaik W 2014. Dissemination of cephalosporin resistance genes between *Escherichia coli* strains from farm animals and humans by specific plasmid lineages. *PLOS Genet*. 10(12): 1-17. doi: 10.1371/journal.pgen.1004776.
- García A, Fox JG, Besser TE. 2010. Zoonotic enterohemorrhagic *Escherichia coli*: a one health perspective. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*. 51(3): 221–232. doi: 10.1093/ilar.51.3.221.
- Goyal A, Prasad KN, Prasad A, Gupta S, Ghoshal U, Ayyagari A. 2009. Extended spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* & *Klebsiella pneumoniae* & associated

- risk factors. *Indian Journal of Medical Research* 129(6): 695–700.
- Guenther S, Ewers C, Wieler LH. 2011. Extended-spectrum beta-lactamases producing *E. coli* in wildlife, yet another form of environmental pollution? *Frontier Microbiology* 2: 246. doi: 10.3389/fmicb.2011.00246.
- Hinthong W, Pumipuntu N, Santajit S, Kulpeanprasit S, Buranasinsup S, Sookrung N, Chaicumpa W, Aiumurai P, Indrawattana N. 2017. Detection and drug resistance profile of *Escherichia coli* from subclinical mastitis cows and water supply in dairy farms in Saraburi Province, Thailand. *Peer Journal* 5: e3431. doi: 10.7717/peerj.3431.
- Hohmann MF, Wente N, Zhang Y, Klocke D, Krömker V. 2020. Comparison of two teat skin sampling methods to quantify teat contamination. *Milk Science International* 73: 2–6. doi: 10.25968/MSI.2020.1.
- Imasari T. 2017. Prevalensi dan pola genotif SHV, TEM, CTX-M bakteri Enterobacteriaceae penghasil Extended Spectrum β -lactamase dari feses sapi perah dan penduduk sekitar peternakan di Surabaya [Tesis]. Surabaya: Universitas Airlangga.
- [ISO] International Organization for Standardization. 2001. *ISO 16649-2:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of glucuronidase-positive Escherichia coli*. Geneva (CH): International Organization for Standardization.
- Liu G, Ding L, Han B, Piepers S, Naqvi SA, Barkema HW, Ali T, De Vliegher S, Xu S, Gao J. 2018. Characteristics of *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis exposed to subminimum inhibitory concentrations of cefalotin or ceftazidime. *BioMedicine Research International* 2018: e4301628. doi: <https://doi.org/10.1155/2018/4301628>. [diakses 2021 Feb 23]. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2018/4301628/>
- Lukman DW, Sudarwanto M, Purnawarman T, Latif H, Piseštyani H, Sukmawinata E, Akineden O. 2016. CTX-M-1 dan CTX-M-55 producing *Escherichia coli* isolated from broiler feses in Poultry Slaughterhouse, Bogor, West Java Province. *Global Advanced Research Journal of Medicine and Medical Science*. 5(12): 287–291.
- Msolo L, Igbinosa EO, Okoh AI. 2016. Prevalence and antibiogram profiles of *Escherichia coli* O157:H7 isolates recovered from three selected dairy farms in the Eastern Cape Province, South Africa. *Asian Pacific Journal Tropical Diseases*. 6(12): 990–995. doi: 10.1016/S2222-1808(16)61170-2.
- Navab-Daneshmand T, Friedrich MND, Gächter M, Montealegre MC, Mlambo LS, Nhwatiwa T, Hans-Joachim M, Julian TR. 2018. *Escherichia coli* contamination across multiple environmental compartments (soil, hands, drinking water, and handwashing water) in Urban Harare: correlations and risk factors. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 98(3): 1–23. doi: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0521>
- Ogunshe A, Adeola A, Adedokun R, Jubril A. 2019. Indigenous and cross-border eco-health implications of unethical injectable antimicrobial drugs administration under bovine livestock farming and commercial conditions. *Journal of Zoonotic Diseases and Public Health* 3(1:3): 1–6.
- [PHAC] Public Health Agency of Canada. 2014. *E. coli*. [diakses 2021 Okt 1]. <http://www.phac-aspc.gc.ca/fs-sa/fsfi/ecoli-eng.php>.
- Paterson D, Bonomo RA. 2015. Extended-spectrum β -lactamase: A clinical update. *Clinical Microbiology Reviews* 18(4): 657–686.
- Piras C, Soggiu A, Bonizzi L, Gaviraghi A, Deriu F, Martino LD, Iovane G, Amoresano A, Roncada P. 2012. Comparative proteomics to evaluate multi drug resistance in *Escherichia coli*. *Molecular Biosystems* 8(4): 1060–1067. doi: 10.1039/C1MB05385J.
- Poirel L, Madec J-Y, Lupo A, Schink A-K, Kieffer N, Nordmann P, Schwarz S. 2018. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. Di dalam: Schwarz S, Cavaco LM, Shen J. (Editor). *Antimicrobial Resistance in Bacteria from Livestock and Companion Animals*. New Jersey (NJ): John Wiley & Sons, Ltd. Hlm 289-316
- Prescott JF. 2013. Beta-lactam Antibiotics: Penam Penicillins. Di dalam: Giguère S, Prescott JF, Dowling PM, editor. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* Fifth Edition. Hokoben (NJ): John Wiley & Sons. Hlm. 135-152

- Ranjbar R, Safarpour Dehkordi F, Sakhaei Shahreza MH, Rahimi E. 2018. Prevalence, identification of virulence factors, O-serogroups and antibiotic resistance properties of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* strains isolated from raw milk and traditional dairy products. *Antimicrobial Resistance and Infection Control* 7(1): 53. doi: 10.1186/s13756-018-0345-x.
- Ruiz C, Levy SB. 2010. Many chromosomal genes modulate MarA-mediated multidrug resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54(5): 2125–2134. doi: 10.1128/AAC.01420-09.
- Sabir S, Ahmad Anjum A, Ijaz T, Asad Ali M, ur Rehman Khan M, Nawaz M. 2014. Isolation and antibiotic susceptibility of *E. coli* from urinary tract infections in a tertiary care hospital. *Pakistan Journal of Medicine Science* 30(2): 389–392.
- Sartika RAD, Indrawani YM, Sudiarti T. 2005. Analisis mikrobiologi *Escherichia coli* O157:H7 pada hasil olahan hewan sapi dalam proses produksinya. *Makara Kesehatan* 9(1): 23–29.
- Schaufler K, Semmler T, Wieler LH, Wöhrmann M, Baddam R, Ahmed N, Müller K, Kola A, Fruth A, Ewers C, Guenther s. 2016. Clonal spread and interspecies transmission of clinically relevant ESBL-producing *Escherichia coli* of ST410—another successful pandemic clone? *FEMS Microbiology Ecology* 92(1): 1–9. doi: 10.1093/femsec/fiv155.
- Shaikh J, Fatima J, Shakil S, Rizvi S, Kamal M. 2015. Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamase: types, epidemiology, and treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22(1): 90–101.
- Srinivasan V, Gillespie BE, Lewis MJ, Nguyen LT, Headrick SI, Schukken YH, Oliver SP. 2007. Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. *Veterinary Microbiology* 124(3): 319–328. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.04.040.
- Sudarwanto M, Akineden O, Odenthal S, Gross M, Usleber E. 2015. Extended spectrum β -Lactamase (ESBL) producing *Klebsiella pneumoniae* in bulk tank milk from dairy farms in Indonesia. *Foodborne Pathogens and Disease* 12(7): 585–590.
- Sudarwanto M, Lukman DW, Latif H, Pisestyani H, Sukmawinata E, Akineden Ö, Usleber E. 2016. CTX-M producing *Escherichia coli* isolated from cattle feces in Bogor slaughterhouse, Indonesia. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(7): 605–608. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.05.001.
- Soraas A, Sundsfjord A, Sandven I, Brunborg C, Jenum PA. 2013. Risk factors for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing *Enterobacteriaceae*—a case-control study in a low prevalence country. *PLoS One* 8(7): 1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0069581.
- Tadesse DA, Zhao S, Tong E, Ayers S, Singh A, Bartholomew MJ, McDermott PF. 2012. Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950–2002. *Emerging Infectious Diseases* 18(5): 741–749. doi:10.3201/eid1805.111153.
- Thai T, Salisbury BH, Zito PM. 2021. *Ciprofloxacin*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing.
- Umadevi S, Kandhakumari G, Joseph NM, Kumar S, Easow JM, Stephen S, Singh UK. 2011. Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of ESBL producing gram negative bacilli. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 5(2): 236–239.
- Vanitha HD, Sethulekshmi C, Latha C. 2018. An epidemiological investigation on occurrence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in raw milk. *Veterinary World*. 11(8): 1164–1170. doi: 10.14202/vetworld.2018.1164-1170.
- Wasteson Y. 2001. Zoonotic *Escherichia coli*. *Acta Veterinaria Scandinavica Supplementum* 95: 79–84. doi: 10.1186/1751-0147-43-S1-S79.
- Welde N, Fufa Abunna F, Bihonegn Wodajnew B. 2020. Isolation, identification and antimicrobial susceptibility profiles of *E. coli* O157: H7 from raw cow milk in and around Modjo Town, Ethiopia. *Journal of American Science* 16(6): 62–79. doi: 10.7537/marsjas160620.08.
- Zhang X, Xiao S, Jiang X, Li Y, Fan Z, Yu Y, Wang P, Li Di, Zhao X, Liu C. 2019. Genomic characterization of *Escherichia coli* LCT-EC001, an extremely multidrug-resistant strain with an amazing number of resistance genes. *Gut Pathogens* 11(1): 1–8. doi: 10.1186/s13099-019-0298-5.